



# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **INFECÇÕES HUMANAS POR AEROMONAS**

Trabalho submetido por  
**Sara Patrícia Alves Moraes**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Prof. Doutora Helena Barroso**

**Outubro de 2013**

## **Dedicatória**

Dedico esta monografia às pessoas mais importantes da minha vida: os meus queridos Pais e o meu grande Irmão.

Obrigada por existirem.

## **Agradecimentos**

Embora a monografia seja, pela sua finalidade académica, um trabalho individual, esta, direta ou indiretamente reúne os contributos de várias pessoas. Por isso, não posso de deixar de manifestar os mais sinceros agradecimentos pelos incentivos e apoios em mais uma etapa da minha formação académica.

À Prof. Doutora Helena Barroso, pela sua orientação, disponibilidade, solução de dúvidas, opiniões e críticas, essenciais na elaboração da monografia. O meu muito obrigada também pelo empenho na fase final da monografia que mesmo tendo imenso trabalho foi incansável e determinante para a sua realização.

À Mestre Ana Pintão, pelas oportunidades e pela confiança que depositou em mim e por tudo o que me proporcionou.

A todos os Professores do instituto pelo enriquecimento da minha formação académica e científica.

Aos meus colegas mais próximos e em especial às minhas amigas Célia, Lara e Zaida pela amizade, apoio, incentivo, força, companheirismo e por todos os momentos que partilhámos.

A todos os meus familiares pelo incentivo e apoio incondicional, em especial aos meus Pais e Irmão pela coragem, paciência, ajuda na superação dos obstáculos e sobretudo por acreditarem em mim e naquilo que faço. Obrigada por tornarem possível a concretização de mais uma etapa.

Aos meus avós paternos e tio por estarem sempre comigo.

O meu profundo e sentido agradecimento a todos vós.

## **Resumo**

As bactérias do género *Aeromonas* estão amplamente distribuídas no meio ambiente, especialmente no ecossistema aquático. Encontram-se implicadas em várias infeções animais e são cada vez mais reconhecidas como patógenos humanos. Os diferentes tipos de infeção/doença humana que *Aeromonas* podem causar bem como o difícil diagnóstico clínico e identificação laboratorial, tornam esta bactéria uma grande preocupação para a comunidade médica. Tais infeções incluem as gastrointestinais, pele e tecidos moles, intra-abdominais, respiratórias, oculares, trato urinário, meningite e septicemia.

Além das infeções, a problemática compreensão taxonómica e a complexa classificação, o crescente reconhecimento da sua patogénese, a indeterminada prevalência correta das infeções à escala global e o desenvolvimento de resistências a vários antibióticos tornam cada vez mais preponderante a investigação sobre esta bactéria.

De forma a compreender o real papel de *Aeromonas* nas infeções humanas bem como toda a controvérsia que recai sobre esta bactéria, foi realizada uma ampla revisão sobre este emergente patógeno humano.

**Palavras-chave:** *Aeromonas*, infeções, humanas, patógeno.

## **Abstract**

*Aeromonas* genus bacteria are widely spread in the environment, with special focus on aquatic ecosystems. They are the cause of several infections on animals and are, now more than ever, acknowledged as important human pathogens. Since this bacteria can cause different types of infections/diseases, clinical diagnosis is difficult, just as laboratory identification, making it a rising concern amid the medical community. Such infections include systems such as gastrointestinal, skin and soft tissues, intra-abdominal, respiratory, ocular, urinary tract, meningitis and sepsis.

Besides the increasing infection incidence due to this genus, problematic and complex taxonomy and classification, increasing pathogenesis knowledge, undetermined infections prevalence at a global scale and resistance development to different antibiotic classes became motives to why the research on these bacteria is fundamental.

As a way to better understand the role of *Aeromonas* on human infections as well as all controversy surrounding this theme a revision and compilation about this pathogen was performed.

**Key words:** *Aeromonas*, infections, human, pathogen.

## Índice Geral

1. Introdução.....	11
2. Taxonomia e Classificação.....	12
3. Género <i>Aeromonas</i> .....	18
3.1. Habitat.....	18
3.2. Caraterísticas Fenotípicas .....	20
3.3. Caraterísticas Bioquímicas.....	22
4. Patogenicidade.....	22
4.1. Fatores de Virulência .....	24
4.1.1. Estruturas da célula.....	25
4.1.1.1. Cápsula e Lipopolissacarídeo.....	25
4.1.1.2. Camada S.....	25
4.1.2. Toxinas .....	26
4.1.2.1. Enterotoxinas.....	26
4.1.2.2. Hemolisinas .....	26
4.1.2.3. Toxina Shiga .....	27
4.1.3. Outras enzimas extracelulares .....	28
4.1.3.1. Lipase .....	28
4.1.3.2. Proteases.....	28
4.1.4. Sistemas de secreção .....	29
4.1.5. Quorum sensing .....	31
4.1.6. Sideróforos .....	32
4.1.7. Adesinas .....	33
4.1.7.1. Adesinas filamentosas: Píli/Fímbrias .....	33
4.1.7.2. Adesinas não filamentosas .....	34
4.1.8. Mobilidade.....	34

4.1.8.1.    Flagelos .....	34
4.2.    Processo de Invasão .....	35
5.    Infecções Humanas .....	37
5.1.    Gastrointestinais.....	38
5.2.    Pele e tecidos moles .....	40
5.3.    Intra-abdominais .....	44
5.4.    Infecções respiratórias .....	47
5.5.    Outras infecções .....	49
5.5.1.    Trato urinário.....	49
5.5.2.    Oculares .....	51
5.5.3.    Meningite.....	53
5.6.    Septicemia.....	53
6.    Epidemiologia .....	56
7.    Métodos de Detecção e Identificação .....	58
7.1.    Métodos Convencionais.....	58
7.2.    Métodos Moleculares.....	64
8.    Tratamento.....	67
8.1.    Antibioterapia .....	67
8.1.1.    Introdução aos Antibióticos.....	67
8.1.2.    Antibioterapia nas infecções por <i>Aeromonas</i> spp. ....	68
8.1.3.    Resistências aos Antibióticos em <i>Aeromonas</i> .....	73
8.2.    Outros Tratamentos.....	77
8.2.1.    Novos Tratamentos em Estudo.....	77
9.    Prevenção .....	78
10. Conclusão .....	81
11. Bibliografia.....	82

Anexos

## Índice de Figuras

Figura 1 - Flagelo polar (A) e flagelos laterais (B) da estirpe <i>A. veronii</i> biovar <i>sobria</i> BC88 e CA25 respectivamente, ao microscópio eletrônico de transmissão .....	21
Figura 2 - Representação esquemática de alguns fatores de virulência de espécies de <i>Aeromonas</i> (bactéria de Gram negativo) .....	24
Figura 3 - Representação esquemática do sistema de secreção Tipo III. ....	30
Figura 4 - Flagelos na patogênese bacteriana. ....	35
Figura 5 - Possíveis fontes de infecção/colonização, por <i>Aeromonas</i> , para o Homem....	37
Figura 6 - Locais de ação de várias classes antibióticas.....	67

## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Atuais GHs do género <i>Aeromonas</i> . ....	14
Tabela 2 - Atual nomenclatura e classificação de <i>Aeromonas</i> : 32 espécies e 12 subespécies .....	16
Tabela 3 - Espécies de <i>Aeromonas</i> e respectivas frequências no meio ambiente .....	19
Tabela 4 - Identificação do género <i>Aeromonas</i> .....	62
Tabela 5 - Antibioterapia utilizada em infecções gastrointestinais por <i>Aeromonas</i> spp..	68
Tabela 6 - Sensibilidade antibiótica das bactérias do género <i>Aeromonas</i> .....	72



## Lista de abreviaturas

ADN - ácido desoxirribonucleico  
GHs - grupos de hibridização  
RFLP - polimorfismo de fragmentos de restrição  
PCR - reação em cadeia da polimerase  
16S - subunidade pequena  
rADN - ADN ribossomal  
RAPD - amplificação aleatória do ADN polimórfico  
rARN - ácido ribonucleico ribossomal  
MLST - *multilocus sequence typing*  
LPS - lipopolissacarídeo  
AMPc - 5'-monofosfato de adenosina cíclico  
SUH - síndrome urémico hemolítico  
ATGC - aciltransferase glicerofosfolípido:colesterol  
ADNase - desoxirribonuclease  
ARNase - ribonuclease  
ADP - adenosina difosfato  
QS - Quorum Sensing  
AHL - lactona N-acetilhomoserina  
C4-HSL - lactona N-butil-L-homoserina  
Bfp - *bundle-forming pili*  
Tap - *type IV Aeromonas pili*  
ABC - *ATP-binding cassette*  
ITU – infecções do trato urinário  
TCBS - tiosulfato-citrato-sais biliares-sacarose  
LXD - lisina-xilose-dextrose  
CD - citrato-desoxicolato  
SS - *Shigella-Salmonella*  
ASA - agar de sangue com ampicilina  
NIC - novobiocina-irgasan-cefsulodina  
LAMP - *loop-mediated isothermal amplification*  
MALDI-TOF - *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight*  
UFC - unidades formadoras de colónias  
Stx - toxinas Shiga

## 1. Introdução

As bactérias do género *Aeromonas* são Gram negativo, vulgarmente em forma de bacilos, anaeróbias facultativas, pertencentes à família *Aeromonadaceae* (Martin-Carnahan & Joseph, 2005). A sua taxonomia e classificação são complexas e tem-se assistido a diversas alterações ao longo dos anos (Abbott, Cheung & Janda, 2003).

Os microrganismos *Aeromonas* são comuns no ecossistema aquático sendo muitas vezes associados a infeções em animais como répteis, anfíbios e sobretudo peixes (Gosling, 1996; Martino et al., 2011). No entanto, nos últimos anos tem-se verificado um aumento de casos de infeções humanas por *Aeromonas* (Obi, Ramalivhana, Samie & Igumbor, 2007), o que tem despertado o interesse da comunidade científica para este emergente patogénico humano.

Estas bactérias encontram-se amplamente distribuídas no globo e podem causar uma grande variedade de infeções no hospedeiro humano, nomeadamente infeções gastrointestinais, pele e tecidos moles, oculares, intra-abdominais, respiratórias, do trato urinário, meningite e septicemia (Janda & Abbott, 1998; Kumar et al., 2012; Mandal, Dhodapkar, Acharya, Sastry & Parija, 2010). Este microrganismo foi mencionado há mais de 50 anos como possível patogénico gastrointestinal (Lautrop, 1961). Todavia, matem-se alguma controvérsia sobre o papel de *Aeromonas* como bactéria enteropatogénica sobretudo pelo facto de indivíduos imunocompetentes assintomáticos poderem conter a bactéria nas fezes (Edberg, Browne & Allen, 2007). São considerados agentes oportunistas e têm maior incidência na população pediátrica e geronte bem como nos indivíduos com o sistema imunitário debilitado, sendo as principais fontes de infeção a água e os alimentos (Daskalov, 2006; Lamy, Kodjo, Group the colBVH Study & Laurent, 2009).

Na presente monografia, será realizada uma breve análise sobre a taxonomia e classificação desta bactéria, realçando o seu estado atual. Posteriormente caracterizar-se-á *Aeromonas* quanto ao habitat, perfil fenotípico e bioquímico bem como o possível mecanismo de infeção com base nos vários fatores de virulência que apresentam. O maior destaque vai ser dado às infeções humanas e à distribuição quantitativa desta bactéria na população. Em seguida, será feita uma breve revisão sobre os vários métodos convencionais de deteção e identificação e mencionar-se-á as metodologias moleculares mais apropriadas para os laboratórios com análise de rotina. Serão referidos ainda os possíveis tratamentos, incluindo a terapêutica antibiótica (com referência a

possíveis resistências) e intervenções médico/cirúrgicas. Por fim, e não menos importante, serão indicadas possíveis medidas de prevenção.

## 2. Taxonomia e Classificação

Desde a identificação da primeira espécie de *Aeromonas* há mais de 120 anos por Zirmmerman (Euzéby, 1997), que a taxonomia e classificação deste emergente patogénico humano tem vindo a sofrer diversas alterações (Abbott et al., 2003; Farmer III, Arduino & Hickman-Brenner, 2006; Igbinosa, Igumbor, Aghdasi, Tom & Okoh, 2012). Nos 40 anos seguintes à primeira identificação, várias foram as descrições de espécies de *Aeromonas* por diversos autores, contudo, os métodos de identificação utilizados na época eram muito rudimentares, não sendo possível determinar se as descrições se tratavam da mesma espécie (Farmer III et al., 2006). Atendendo a essas descrições de espécies de *Aeromonas*, as quais foram atribuídas a diversos géneros, nomeadamente o género *Proteus*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, entre outros (Farmer III et al., 2006; Kalina, 1976), foi em 1936 que Kluyver e Van Niel, designaram pela primeira vez *Aeromonas* como género (Janda & Abbott, 1998). No entanto, só em 1957, na sétima edição do *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, é que as espécies de *Aeromonas* anteriormente atribuídas a outros géneros, foram incluídas no género *Aeromonas*, pertencente à família *Pseudomonadaceae* (Snieszko, 1957).

Um outro aspeto importante da história de *Aeromonas* foi a atribuição da sua própria família. Além da classificação do género *Aeromonas* na família *Pseudomonadaceae* (Snieszko, 1957), como anteriormente referido, este género também foi incluído na família *Vibrionaceae* (Parker & Shaw, 2011). Em 1986, após estudos moleculares, concluiu-se que *Aeromonas* apresentavam resultados filogenéticos suficientes, em relação às famílias *Enterobacteriaceae* e *Vibrionaceae*, para lhes ser concedida uma família independente, designada, *Aeromonadaceae* (Colwell, MacDonell & De Ley, 1986).

A classificação, nomenclatura e taxonomia das espécies de *Aeromonas* é um assunto que tem merecido grande atenção por parte da comunidade científica (Farmer III et al., 2006; Janda & Abbott, 2010). Até final da década de 70, constituíram-se dois grupos de *Aeromonas* tendo em conta as suas características fenotípicas e hospedeiro (Igbinosa et al., 2012). O grupo de *Aeromonas* psicrofílas não móveis, isoladas de peixes infetados, designadas *Aeromonas salmonicida* e o grupo de *Aeromonas* mesófilas

móveis, denominadas *Aeromonas hydrophila*, isoladas de seres humanos com infecções (Janda & Abbott, 1998; MacInnes, Trust & Crosa, 1979).

Em 1981, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas punctata*, *Aeromonas salmonicida* e *Aeromonas sobria*, eram as únicas espécies de *Aeromonas* que faziam parte da nomenclatura (Euzéby, 1997). Foi a partir do final da década de 70 início da década de 80, com base em técnicas genéticas, designadamente a hibridização ácido desoxirribonucleico-ácido desoxirribonucleico (ADN-ADN), que se iniciou o estudo evolutivo de *Aeromonas*, pretendendo-se relacionar espécies em termos de relacionamento (Carvalho, 2010; Farmer III et al., 2006). A técnica de hibridização ADN-ADN tem como objetivo identificar estirpes que apresentem homologia de ácido desoxirribonucleico (ADN). Presentemente essa homologia deve ser superior ou igual a 70%, com um  $\Delta T_m$ <sup>1</sup> igual ou inferior a 5°C. Assim, caso se cumpram essas duas premissas as estirpes correspondem à mesma espécie (Wayne et al., 1987). Foi com base na técnica de hibridização ADN-ADN que Popoff e colaboradores (1981), relataram pelo menos sete grupos de hibridização (GHs) em 55 amostras de *Aeromonas*. Posteriormente, o número de GHs subiu para 12 e atualmente estão descritos 18 (Tabela 1) (Łaganowska & Kaznowski, 2005; Martin-Carnahan & Joseph, 2005). Desde então, a taxonomia do género *Aeromonas* não só tem dependido dos resultados fenotípicos como também de dados genotípicos. Assim, passou-se a utilizar a designação fenoespécie quando se trata de estirpes com características fenotípicas similares, determinadas por testes bioquímicos, sendo essas mesmas estirpes associadas à mesma espécie. Ao passo que a designação genomoespécie pretende agrupar estirpes com características genéticas análogas com base nos GHs (Huys et al., 1994).

Com a utilização da técnica de hibridização ADN-ADN, muitos estudos resultaram na identificação de espécies de *Aeromonas* bem como na clarificação de relações entre espécies de *Aeromonas*, mas ainda assim permanecia alguma discordância entre GHs e a análise fenotípica, além de que a identificação de algumas genomoespécies era apenas exequível por hibridização ADN-ADN, técnica não disponível para análises de diagnóstico na grande maioria dos laboratórios (Borrell, Acinas, Figueras & Martínez-Murcia, 1997; Saavedra, Figueras & Martínez-Murcia, 2006; Wilcox, Cook, Thickett, Eley & Spencer, 1992). Por outro lado, detetaram-se resultados incoerentes entre estudos utilizando as mesmas estirpes, sendo ainda de

---

<sup>1</sup>  $\Delta T_m$  – diferença de temperatura de fusão entre híbridos homólogos e heterólogos.

referir que se trata de uma técnica dispendiosa e morosa, pelo que eram imprescindíveis outras metodologias (Ghenghesh, Ahmed, El-Khalek, Al-Gendy & Klena, 2008; Janda & Abbott, 2007; Martinez-Murcia et al., 2011).

Tabela 1 - Atuais GHs do género *Aeromonas*<sup>2</sup>. Adaptado de (Łaganowska & Kaznowski, 2005; Martin-Carnahan & Joseph, 2005).

Grupo de Hibridização	Estirpes de Referência ( <sup>T</sup> = Estirpe Tipo)	Genomoespécie
1	ATCC 7966 <sup>T</sup>	<i>A. hydrophila</i>
2	ATCC 14715 <sup>T</sup>	<i>A. bestiarum</i>
3	ATCC 33658 <sup>T</sup> , ATCC 33659 <sup>T</sup> , ATCC 27013 <sup>T</sup> , ATCC 49393 <sup>T</sup>	<i>A. salmonicida</i> <sup>3</sup>
4	ATCC 15468 <sup>T</sup>	<i>A. caviae</i>
5	CDC 0862-83(DS), CDC 0435-84 (DS), ATCC 33907 <sup>T</sup>	<i>A. media</i>
6	ATCC 23309 <sup>T</sup> , NCMB 74 <sup>T</sup>	<i>A. eucrenophila</i>
7	CIP 7433 <sup>T</sup> , NCMB 12065 <sup>T</sup>	<i>A. sobria</i>
8	CDC 0437-84 (DS), ATCC 9071 (RS)	<i>A. veronii</i>
9	ATCC 49568 <sup>T</sup>	<i>A. jandaei</i>
10	ATCC 35624 <sup>T</sup>	<i>A. veronii</i> biovar <i>veronii</i>
11	ATCC 35941 (RS)	Sem nome
12	ATCC 43700 <sup>T</sup>	<i>A. schubertii</i>
13	ATCC 43946 (RS)	<i>Aeromonas</i> Grupo 501
14	ATCC 49657 <sup>T</sup>	<i>A. trota</i>
15	ATCC 51208 <sup>T</sup> , CECT 4199 <sup>T</sup>	<i>A. allosaccharophila</i>
16	ATCC 51929 <sup>T</sup> , CECT 4342 <sup>T</sup>	<i>A. encheleia</i>
17	LMG 17541 <sup>T</sup>	<i>A. popoffii</i>
18	MTCC 3249 <sup>T</sup>	<i>A. culicicola</i>

Nos anos seguintes, muitas outras técnicas genéticas foram utilizadas na diferenciação de espécies de *Aeromonas* pelo facto de serem menos exigentes do ponto de vista prático: o polimorfismo de fragmentos de restrição (RFLP) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) do gene subunidade pequena (16S) ADN ribossomal (rADN), a ribotipagem, a amplificação aleatória do ADN polimórfico (RAPD), a

<sup>2</sup> Abreviaturas: A., *Aeromonas*.

<sup>3</sup> Inclui 5 subespécies: *A. salmonicida* subesp. *salmonicida*, *A. salmonicida* subesp. *achromogenes*, *A. salmonicida* subesp. *masoucida*, *A. salmonicida* subesp. *smithia*, e *A. salmonicida* subsp. *pectinolytica*.

sequenciação do gene 16S ácido ribonucleico ribossomal (rARN), entre outros (Kaznowski & Konecka, 2005; Łaganowska & Kaznowski, 2005; Tomás, 2012). A sequenciação do gene 16S rARN tem sido muito utilizada, uma vez que apresenta boas discriminações a nível filogenético e na maioria das situações apresenta concordância de resultados em relação à hibridização ADN-ADN, contudo, quando se trata de espécies muito próximas do ponto de vista filogenético esta técnica evidencia limitações no reconhecimento dessas espécies pois estamos perante um gene muito conservado ao longo da evolução, em que por vezes a divergência de nucleótidos é mínima (Janda & Abbott, 2007; Küpfer, Kuhnert, Korczak, Peduzzi & Demarta, 2006; Łaganowska & Kaznowski, 2005; Saavedra et al., 2006). Apesar da elevada concordância, foram detetadas algumas não conformidades de resultados entre a sequenciação do gene 16S rRNA e a hibridização ADN-ADN, como por exemplo, entre *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas media*, com divergência em apenas três nucleótidos na sequenciação do gene 16S rADN mas classificados em GHs distintos (Martinez-Murcia, Benlloch, & Collins, 1992). Portanto, tem-se procurado utilizar outros genes que permitam uma análise filogenética e taxonómica mais fidedigna (Küpfer et al., 2006).

Tais genes alternativos são designados genes “*Housekeeping*” e têm demonstrado ser notáveis (Miñana-Galbis, Urbizu-Serrano, Farfán, Fusté & Lorén, 2009). Possuem uma função vital na célula por estarem envolvidos nos mecanismos de subsistência da mesma (Eisenberg & Levanon, 2013), tal como o gene *gyrB* que codifica para a subunidade B da ADN girase, o *rpoD* que codifica para o factor  $\sigma^{70}$ , o *rpoB* que codifica para a subunidade- $\beta$  da ARN polimerase ADN dependente e o *dnaJ* que codifica para proteína de choque térmico (40 kDa), entre outros, sendo que no total já foram utilizados 16 genes “*Housekeeping*” (Janda & Abbott, 2010; Naharro, Rubio & Luengo, 2011; Roger et al., 2012). A análise da sequenciação destes marcadores moleculares tem contribuído não só para a descrição de novas espécies de *Aeromonas* com também para a correção e reclassificação de espécies já identificadas (Martinez-Murcia et al., 2011). Todavia, tem-se notado que a utilização de um único gene “*Housekeeping*” é pouco apropriada (pode por exemplo ocorrer transposição horizontal de genes), sendo atualmente recomenda a análise de pelo menos 5 genes (Martinez-Murcia et al., 2011; Naharro et al., 2011). Recentemente foi utilizado no género *Aeromonas*, um método que ostenta ser rápido e fácil de se aplicar para diferenciação de espécies com base nos genes “*Housekeeping*”, designado *multilocus sequence typing* (MLST) (Martino et al., 2011). Fragmentos de cada gene “*Housekeeping*” são

sequeenciados e é realizada uma análise comparativa dos fragmentos em estudo com os já disponíveis na base de dados (Inouye, Conway, Zobel & Holt, 2012). Vários estudos têm sido descritos utilizando este método, apresentando cada um deles objetivos e esquemas de MLST diferentes mas todos contribuíram para que as relações filogenéticas, a taxonomia, a descrição (incluindo novas espécies), identificação, evolução e toda a controvérsia em redor do género *Aeromonas* fossem melhor compreendidos (Martinez-Murcia et al., 2011; Martino et al., 2011; Roger et al., 2012).

Devido à constante utilização de novos métodos moleculares (alguns deles já descritos acima) para uma melhor compreensão deste género, tem-se assistido a uma descrição exponencial de espécies de *Aeromonas* nos últimos 20 anos (Onuk et al., 2013). Na última edição do *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, consta a descrição de 14 espécies de *Aeromonas* (destacadas a negrito na tabela 2) (Martin-Carnahan & Joseph, 2005). Presentemente estão descritas 32 espécies e 12 subespécies de *Aeromonas*, sendo que os GHs 11 e 13 outrora sem genomoespécie atribuída correspondem atualmente a *Aeromonas encheleia* e *Aeromonas diversa* respetivamente (Tabela 2).

Tabela 2 - Atual nomenclatura e classificação de *Aeromonas*: 32 espécies e 12 subespécies<sup>4</sup> (Euzéby, 1997; Martínez-Murcia et al., 2013).

Espécie (Ano) <sup>5</sup>	Outro Nome (Ano) <sup>6</sup>
<b><i>Aeromonas hydrophila</i> (1943)</b>	
<i>Aeromonas hydrophila</i> subesp. <i>anaerogenes</i> (1964)	
<i>Aeromonas hydrophila</i> subesp. <i>hydrophila</i> (1969)	
<i>Aeromonas hydrophila</i> subesp. <i>proteolytica</i> (1969)	
<i>Aeromonas hydrophila</i> subesp. <i>dhakensis</i> (2002)	
<i>Aeromonas hydrophila</i> subesp. <i>ranae</i> (2003)	
<b><i>Aeromonas salmonicida</i> (1953)</b>	
<i>Aeromonas salmonicida</i> subesp. <i>achromogenes</i> (1967)	
<i>Aeromonas salmonicida</i> subesp. <i>salmonicida</i> (1967)	
<i>Aeromonas salmonicida</i> subesp. <i>masoucida</i> (1969)	
<i>Aeromonas salmonicida</i> subesp. <i>smithia</i> (1989)	
<i>Aeromonas salmonicida</i> subesp. <i>pectinolytica</i> (2000)	

<sup>4</sup> Abreviaturas: subesp., subespécie.

<sup>5</sup> Ano em que a proposta de nome da espécie foi validada.

<sup>6</sup> Outro nome utilizado na literatura para designar a mesma espécie.

<i>Aeromonas punctata</i> (1957)	
<i>Aeromonas punctata</i> subesp. <i>caviae</i> (1964)	
<i>Aeromonas punctata</i> subesp. <i>punctata</i> (1964)	
<i>Aeromonas sobria</i> (1981)	
<i>Aeromonas media</i> (1983)	
<i>Aeromonas caviae</i> (1984)	<i>Aeromonas punctata</i> (1957)
<i>Aeromonas eucrenophila</i> (1988)	
<i>Aeromonas veronii</i> (1988) biovar <i>sobria</i> ou <i>veronii</i>	
<i>Aeromonas schubertii</i> (1989)	
<i>Aeromonas enteropelogenes</i> (1991)	
<i>Aeromonas ichthiosmia</i> (1991)	<i>Aeromonas veronii</i> (1988)
<i>Aeromonas trota</i> (1992)	<i>Aeromonas enteropelogenes</i> (1991)
<i>Aeromonas allosaccharophila</i> (1992)	<i>Aeromonas veronii</i> (1988)
<i>Aeromonas jandaei</i> (1992)	
<i>Aeromonas encheleia</i> (1995)	GH 11
<i>Aeromonas bestiarum</i> (1996)	
<i>Aeromonas popoffii</i> (1997)	
<i>Aeromonas culicicola</i> (2002)	<i>Aeromonas veronii</i> (1988)
<i>Aeromonas molluscorum</i> (2004)	
<i>Aeromonas simiae</i> (2004)	
<i>Aeromonas sharmana</i> (2006)	Não pertence ao género <i>Aeromonas</i>
<i>Aeromonas bivalvium</i> (2007)	
<i>Aeromonas aquariorum</i> (2008)	
<i>Aeromonas diversa</i> (2010)	GH 13
<i>Aeromonas fluvialis</i> (2010)	
<i>Aeromonas piscícola</i> (2010)	
<i>Aeromonas sanarellii</i> (2010)	
<i>Aeromonas taiwanensis</i> (2010)	
<i>Aeromonas tecta</i> (2010)	
<i>Aeromonas rivuli</i> (2011)	
<i>Aeromonas australiensis</i> (2013)	
<i>Aeromonas cavernicola</i> (2013)	

É de realçar que este elevado número de espécies é um pouco ou tanto dúbio, isto porque atualmente não existem padrões mínimos para que uma nova espécie seja aceite,



surgindo situações polémicas como a mesma espécie ostentar nomes diferentes (Tabela 2). Assim, a imposição de padrões mínimos, como por exemplo a utilização de um mínimo de 5 estirpes (bem descritas ao nível fenotípico e genotípico) na descrição da nova espécie, evitaria muitos dos problemas de nomenclatura e taxonomia das espécies de *Aeromonas* (Christensen et al., 2001). Uma das grandes controvérsias foi recentemente esclarecida com base em estudos utilizando a metodologia MLST, os quais confirmaram que *Aeromonas allosaccharophila* e *Aeromonas veronii* são espécies distintas (Martinez-Murcia et al., 2011; Martino et al., 2011; Roger et al., 2012).

O comité *ad hoc*, atendendo ao grande avanço das técnicas de identificação, reuniu-se em 2002 com o intuito de estabelecer recomendações de determinados métodos para a caracterização de novas espécies de bactérias (Stackebrandt et al., 2002).

As espécies de *Aeromonas* estão classificadas taxonomicamente no Domínio *Bacteria*, no Filo XIV *Proteobacteria*, na Classe III *Gamaproteobacteria*, na Ordem XII *Aeromonadales*, na Família I *Aeromonadaceae* e no Género I *Aeromonas* (Martin-Carnahan & Joseph, 2005).

Atendendo ao que foi descrito até agora conclui-se que o género *Aeromonas* é um género em constante evolução não unicamente pela identificação e descrição de novas espécies mas também pela sua reclassificação.

### **3. Género *Aeromonas***

Nesta secção irão ser abordados os temas habitat, características fenotípicas e bioquímicas pois estão inter-relacionados. O conhecimento destas características é muito importante para a compreensão das secções seguintes.

#### **3.1. Habitat**

As bactérias do género *Aeromonas* spp. estão amplamente distribuídas no meio ambiente (Tabela 3), sobretudo nos ecossistemas aquáticos, dos quais são autóctones (Martino et al., 2011).

Tabela 3 - Espécies de *Aeromonas* e respectivas frequências no meio ambiente<sup>11</sup>. Adaptado de (Janda & Abbott, 2010).

Espécies	Vertebrados		Invertebrados			Água		
	Primatas	Outros	Molusco <sup>7</sup>	Artrópode <sup>8</sup>	Outros	Doce	Salina <sup>9</sup>	Alimento <sup>10</sup>
<i>A. allosaccharophila</i>	±	±	0	0	0	0	0	0
<i>A. aquariorum</i>	0	±	0	0	0	±	0	0
<i>A. bestiarum</i>	+	±	±	0	0	++	0	0
<i>A. bivalvium</i>	0	0	±	0	0	0	0	0
<i>A. caviae</i>	+++	+++	++	++	0	++	+++	+++
<i>A. encheleia</i>	0	++	±	0	0	+	0	0
<i>A. eucrenophila</i>	±	+	0	0	0	+	0	0
<i>A. hydrophila</i>	+++	+++	±	±	0	+++	++	++
<i>A. jandaei</i>	+	++	±	0	+	±	0	0
<i>A. media</i>	+	0	0	0	0	+	0	0
<i>A. molluscorum</i>	0	0	±	0	0	0	0	0
<i>A. popoffii</i>	±	0	0	0	0	+	0	0
<i>A. salmonicida</i>	+	+++	0	0	0	++	0	0
<i>A. schubertii</i>	+	±	0	0	0	0	0	±
<i>A. simiae</i>	±	0	0	0	0	0	0	0
<i>A. sobria</i>	0	++	0	0	0	±	0	0
<i>A. tecta</i>	±	±	0	0	0	0	0	0
<i>A. trota</i>	+	0	0	0	0	0	0	±
<i>A. veronii</i>	+++	++	0	±	++	±	++	++

Têm maior preferência para padrões atmosféricos temperados, tropicais e subtropicais (Chao et al., 2013; Hochedez et al., 2010). Estas espécies são isoladas tanto em água doce como salgada, poluída ou não poluída, subterrânea ou superficial, de rios, lagos, lagoas, estuários, piscinas, esgotos, água engarrafada e de sistemas de distribuição de água para consumo humano (em biofilme) (Ghenghesh et al., 2008; Hochedez et al., 2010; Igbinosa et al., 2012). Torna-se assim evidente que alguns dos seres vivos do meio aquático, nomeadamente os crustáceos, os moluscos e os peixes sejam frequentemente colonizados por *Aeromonas* spp., sendo que nestes últimos tanto podem causar doença como estabelecer uma relação de simbiose (Martino et al., 2011; Sharma, Kumar & Pramanik, 2009). De entre as espécies mais comumente isoladas de peixes, *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas salmonicida* são as mais predominantes e são consideradas a causa de um elevado número de mortes de peixes no mundo (Beaz-Hidalgo, Alperi, Buján, Romalde & Figueras, 2010; Stratev, Vashin & Rusev, 2012;

<sup>7</sup> Inclui bivalves e caracóis.<sup>8</sup> Insetos e arácnidos.<sup>9</sup> Estuários.<sup>10</sup> Exclui peixes, marisco e crustáceos.<sup>11</sup> Símbolos e abreviaturas: 0, não foi notificada até à data; ±, raramente notificada; +, incomum; ++, comum; +++ frequente; A., *Aeromonas*.

Tomás, 2012). As espécies *Aeromonas rivuli*, *Aeromonas australiensis* e *Aeromonas cavernicola* foram recentemente descritas e isoladas de meio aquático (Aravena-Román et al., 2013; Figueras et al., 2011; Martínez-Murcia et al., 2013).

Para além dos peixes, também em outros animais como os anfíbios (sapos), os répteis (jacarés, tartarugas e cobras), os insetos, as aves, e mais especificamente as sanguessugas e os morcegos, têm sido isoladas *Aeromonas* spp. assim como nas fezes de vários mamíferos, incluindo o Homem (Hochedez et al., 2010; Igbinosa et al., 2012; Martino et al., 2011; Puthucheary, Puah & Chua, 2012).

Este microrganismo também foi detetado ao nível do solo mas a informação acerca deste habitat está pouco aprofundada (Janda & Abbott, 2010).

Uma grande variedade de alimentos tem sido considerada fonte de espécies de *Aeromonas*, tal como carne de porco, de frango, de coelho e alheira portuguesa, vegetais (alface, tomate, salsa) e laticínios (incluindo leite pasteurizado), para além do peixe e frutos do mar referidos anteriormente (Carvalho, 2010; Edberg et al., 2007; Fontes, Martins, Martínez-Murcia & Saavedra, 2012; Ghenghesh et al., 2008). Ao que tudo indica, a dose necessária para causar infeção é de  $10^3$  a  $10^9$  unidades formadoras colónias (UFC) por grama (Yucel & Erdogan, 2010). O facto de estas bactérias serem encontradas nos alimentos torna-se ainda mais grave quando algumas espécies de *Aeromonas* crescem à temperatura de refrigeração (psicrófilas), num largo intervalo de pH e produzindo exotoxinas (Edberg et al., 2007; Tomás, 2012).

A presença de *Aeromonas* spp. em todos estes recursos torna inevitável o seu contacto com o ser humano, quer seja por consumo ou por atividades náuticas, colocando de certa forma em risco a saúde pública (Igbinosa et al., 2012; Okumura et al., 2011; Parker & Shaw, 2011).

### **3.2. Caraterísticas Fenotípicas**

Uma forma de caraterizar a célula bacteriana é através do seu fenótipo, ou seja, através das propriedades da célula que são diretamente observáveis (Bochner, 2009). As caraterísticas fenotípicas têm elevada relevância ao nível laboratorial para identificação de espécies sobretudo quando se tratam de amostras para diagnóstico clínico (Awan, Ahmed, Bari & Saad, 2005). Relativamente às caraterísticas das espécies do género *Aeromonas*, estas são de Gram negativo, em forma de bacilo isolado ou em grupos de dois e por vezes em forma de cocobacilos, sendo que o tamanho da célula bacteriana varia de 0,3-1.0 µm de diâmetro e 1.0-3.5 µm de comprimento (Martin-Carnahan &

Joseph, 2005). Quanto à temperatura ótima de crescimento esta diverge nos dois grupos de *Aeromonas*, para as psicrófilas (*Aeromonas salmonicida* incluindo subespécies à exceção da *Aeromonas salmonicida* subespécie *pectinolytica*) a temperatura varia entre os 22-25°C e para as mesófilas (inclui todas as restantes *Aeromonas* spp. descritas na última edição do *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*) os valores estão entre os 35-37°C, mas as temperaturas de crescimento podem ir dos 0 aos 45°C (Martin-Carnahan & Joseph, 2005; Parker & Shaw, 2011; Pavan, Abbott, Zorzópulos & Janda, 2000). No que toca ao intervalo de pH, a tolerância é também bastante alargada, entre os 4,5-9,0 mas o crescimento é ótimo entre os 5,5-9,0, particularmente na gama dos valores alcalinos (Ghenghesh et al., 2008; Isonhood & Drake, 2002). As bactérias deste género também crescem na presença de cloreto de sódio e a percentagem deste composto pode variar de 0 a 5% (Merino, Rubires, Knøchel & Tomás, 1995; Naharro et al., 2011). Quanto à mobilidade, algumas espécies exibem essa característica, muito devido à presença do flagelo polar monótrico e/ou flagelos laterais (Figura 1) (Kirov et al., 2002). É também importante referir que estas bactérias se encontram dotadas de outras estruturas, as quais estão diretamente relacionadas com a sua patogenicidade, como o pili, a camada S e a cápsula (Martin-Carnahan & Joseph, 2005).

Não formam esporos mas produzem uma grande diversidade de exoenzimas como a amilase, ADNase, esterases, peptidases, arilamidase, elastase, quitinase e lipase, algumas das quais irão ser abordadas na secção “Patogenicidade” (Igbinosa et al., 2012; Joseph & Carnahan, 2000).

O perfil fenotípico reflete assim a fisiologia da bactéria (Bochner, 2009).

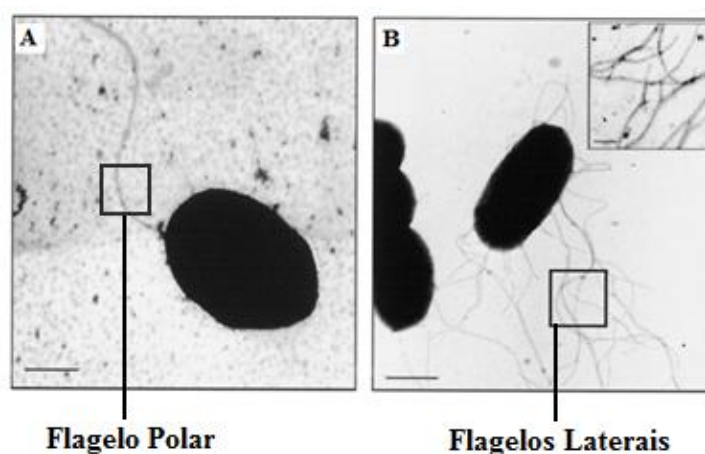


Figura 1 - Flagelo polar (A) e flagelos laterais (B) da estirpe *A. veronii* biovar *sobria* BC88 e CA25 respetivamente, ao microscópio eletrónico de transmissão (barra 100 nm). Adaptado de (Kirov et al., 2002).

### 3.3. Caraterísticas Bioquímicas

Tal como acontece com as caraterísticas fenotípicas também as propriedades bioquímicas das bactérias são muito úteis nos laboratórios, ainda mais quando se trata de patogénicos que causam uma grande variedade de infeções em humanos (Abbott et al., 2003; Lamy et al., 2010).

O metabolismo de *Aeromonas* é anaeróbio facultativo pois tem a capacidade de fermentar vários hidratos de carbono como a maltose, a D-galactose e a trealose, e na ausência de oxigénio estas bactérias têm aptidão para reduzir nitratos a nitritos (Parker & Shaw, 2011; Stratev et al., 2012). Existem outros açúcares, designadamente os álcoois derivados do açúcar que as espécies do género *Aeromonas* não têm capacidade de degradar: o adonitol, o inositol, o dulcitol e o eritritol; além de não fermentarem a D-xilose (à exceção de *Aeromonas cavernicola*) e de não usarem o malonato (Martin-Carnahan & Joseph, 2005; Martínez-Murcia et al., 2013). As bactérias do género *Aeromonas* spp. são positivas para as provas da catalase e oxidase e não são inibidas pelo composto vibriostático O/129 (à exceção de *Aeromonas cavernicola*) (Benagli et al., 2012; Edberg et al., 2007; Martínez-Murcia et al., 2013). As caraterísticas bioquímicas referidas acima são específicas do género *Aeromonas* porque existem muitas diferenças bioquímicas entre espécies, exemplo disso mesmo foi o estudo realizado por Abbott e colaboradores (2003) onde foram testadas 62 propriedades bioquímicas em 193 estirpes de *Aeromonas*, do qual resultaram 9 caraterísticas com resultados idênticos, o que é bastante crítico para a identificação destas espécies a nível laboratorial. No anexo I estão indicadas as propriedades bioquímicas para algumas espécies de *Aeromonas*.

## 4. Patogenicidade

O termo patogenicidade tem sido aplicado em diversas áreas científicas, incluindo a microbiologia, para a qual é definida como a capacidade que um microrganismo possui para causar doença/infeção a um determinado hospedeiro (Peterson, 1996; Thomas & Elkinton, 2004). Essa capacidade está dependente de vários fatores, nomeadamente do sistema imunológico do hospedeiro, da via de infeção, da concentração de bactérias no inócuo e dos fatores de virulência da própria bactéria (Falkow, 1990). Os fatores de virulência são de certa forma estratégias próprias da

bactéria para invadir e contornar o sistema imunológico do hospedeiro, para de seguida se multiplicar (Peterson, 1996; Tomás, 2012).

A compreensão da patogenicidade de *Aeromonas* spp. ainda está pouco clara e por isso tem-se procurado, por intermédio de ensaios *in vivo* e *in vitro*, determinar os fatores de virulência assim como também o mecanismo pelo qual esta bactéria atua (Ottaviani et al., 2011; Puthucheary et al., 2012). As bactérias do género *Aeromonas* são conhecidas por causarem uma grande diversidade de infeções/doenças em hospedeiros humanos, tanto em imunocomprometidos como em imunocompetentes, tais como infeções oculares, infeções respiratórias, sendo as mais frequentes, as infeções de pele e tecidos moles bem como as infeções gastrointestinais (Martin-Carnahan & Joseph, 2005; Senderovich et al., 2012). De entre as várias espécies de *Aeromonas* apenas *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* biovar *sobria* e *Aeromonas caviae* são as mais comumente implicadas a nível clínico (Janda & Abbott, 1998).

Reproduzir *in vivo* as infeções/doenças às quais as espécies de *Aeromonas* são inerentes não tem sido fácil porque não existe atualmente um modelo animal, além de ser dispendioso do ponto de vista económico e por se colocar em causa diversas questões éticas (Froquet et al., 2007). Ainda assim, os investigadores têm utilizado nos seus ensaios, ratos previamente tratados com antibiótico e galinhas sem germes (Kelleher & Kirov, 2000; Longa-Briceño, Peña-Contreras, Dávila-Vera, Mendoza-Briceño & Palacios-Prü, 2006). Um estudo demonstrou que a sanguessuga medicinal, que tem uma relação de simbiose no trato gastrointestinal com algumas espécies de *Aeromonas*, pode ser bastante útil para determinar o processo deste microrganismo no sistema digestivo do hospedeiro, através da identificação dos genes envolvidos (Graf, 1999; Silver, Rabinowitz, Küffer & Graf, 2007). Quanto aos ensaios *in vitro*, têm envolvido várias linhagens de células como Caco-2, Hep-2, Vero, MDBK, BHK-21, B95a, entre outras (Ghatak, Agarwal & Bhilegaonkar, 2006; Saidi, Snoussi, Usai, Zanetti & Bakhrouf, 2011).

Atendendo a esta situação, Janda e Abbott (2010) indicam que atualmente a melhor forma de compreender o mecanismo pelo qual este patogénico é capaz de causar infeção/doença no hospedeiro, principalmente no Homem, é através de um “estudo indireto”, ou seja, pelas infeções/doenças que causam e consequente evolução das mesmas, com possível analogia a bactérias com características idênticas.

#### 4.1. Fatores de Virulência

A virulência é citando Peterson (1996) “uma medida de patogenicidade de um organismo”, que pode ser determinada em ensaio experimental. É vulgarmente utilizada para classificar bactérias em patogénicas ou não patogénicas (Casadevall & Pirofski, 2001).

Os fatores de virulência são propriedades muito relevantes no processo de infeção/doença de uma bactéria e a identificação destes pode ter um forte contributo na compreensão da patogenicidade de *Aeromonas* (John & Hatha, 2013). Este microrganismo apresenta vários fatores de virulência (Figura 2), desde os relacionados com a célula em si como a cápsula e camada-S até aos extracelulares como as toxinas, estando as infeções de *Aeromonas* spp. dependentes de múltiplos fatores, incluindo os ambientais (Onuk et al., 2013; Roger et al., 2012; Tomás, 2012). A deteção destes fatores de virulências tem-se devido em grande parte à evolução da genética molecular ao nível da identificação e sequenciação de genes (Delamare et al., 2012; Seshadri et al., 2006).

De seguida serão descritos os fatores de virulência que são característicos das espécies de *Aeromonas*. Consoante a espécie e mesmo a estirpe, assim diferem os fatores de virulência (Chuang et al., 2011; Farmer III et al., 2006).

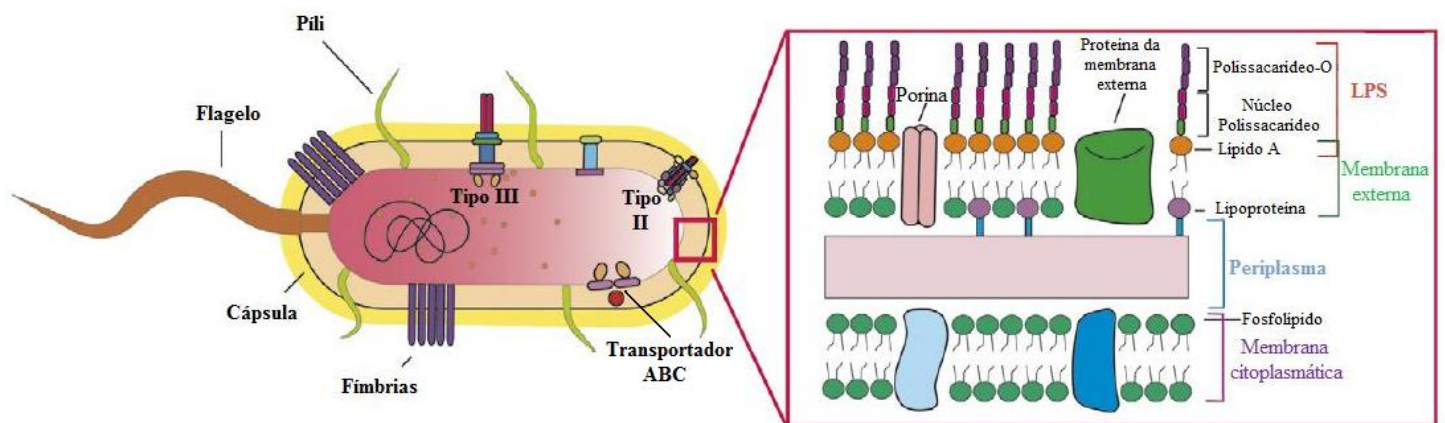


Figura 2 - Representação esquemática de alguns fatores de virulência de espécies de *Aeromonas* (bactéria de Gram negativo). Adaptado de (Wu, Wang & Jennings, 2008).

#### 4.1.1. Estruturas da célula

##### 4.1.1.1. Cápsula e Lipopolissacarídeo

A cápsula, componente celular da bactéria não é mais que um conjunto de polissacarídeos que envolve a membrana externa (Wilson et al., 2002). A virulência da cápsula está sobretudo relacionada com a capacidade antifagocitária e de invasão das células (Merino & Tomás, 2001). O lipopolissacarídeo (LPS), ancorado à membrana externa, também é uma das estruturas envolvidas na virulência da bactéria e está dividido em três porções, o antígeno-O, o núcleo polissacarídeo e o lípido A (porção mais interna do LPS e a maior responsável pela toxicidade desta estrutura) (Wilson et al., 2002; Yang, Oishi, Martin & Seeberger, 2013). As bactérias do gênero *Aeromonas* têm o LPS na sua constituição tendo como principal função contornar o sistema imunitário provocando uma resposta anti-inflamatória no hospedeiro através de uma grande libertação de mediadores químicos (Chopra, Graf, Horneman & Johnson, 2009; Tomás, 2012). Um estudo realizado por Wang e colaboradores (2004) determinou que *Aeromonas salmonicida*, das principais espécies causadoras de doença em peixes, estirpe 80204-1 tem a capacidade de formar cápsula, tanto *in vivo* como *in vitro* tendo sido também detetada a presença do LPS. A bactéria *Aeromonas hydrophila* tem sido uma das espécies alvo de análise do LPS (Subashkumar et al., 2007).

Atendendo às propriedades destas duas estruturas, tudo aponta para que possam ter um papel crucial no processo de invasão e sobrevivência no hospedeiro (Wang et al., 2004).

##### 4.1.1.2. Camada S

Nas bactérias de Gram negativo, a camada S, de constituição glicoproteica, localiza-se na membrana externa da célula, apresentando uma estrutura bidimensional (Pum, Toca-Herrera & Sleytr, 2013). Mais uma vez, em estudos *in vitro* com células de peixes, *Aeromonas salmonicida* comprovou maior virulência quando dotada desta camada pois esta confere maior resistência à bactéria e capacidade de adesão às células, podendo ser particularmente importante no processo inicial de infeção (Garduño et al., 2000). Contudo, estudos com amostras clínicas de seres humanos para avaliar a virulência da camada S demonstraram resultados não conclusivos (Martin-Carnahan & Joseph, 2005).



#### 4.1.2. Toxinas

##### 4.1.2.1. Enterotoxinas

As enterotoxinas são consideradas os fatores de virulência com mais importância nas infecções gastrointestinais por *Aeromonas* (Kingombe et al., 2010). Estas estão divididas em duas classes, a enterotoxina citotóxica ou citolítica e as enterotoxinas citotônicas, com diferentes características de estabilidade ao calor, uma vez que a enzima da primeira classe é termolábil (codificada pelo gene *act*) e as enzimas da segunda classe podem apresentar dois tipos, a termolábil (codificada pelo gene *alt*) e termoestável (codificada pelo gene *ast*) (Albert et al., 2000).

A enterotoxina citotóxica tem a sua ação no intestino, mais concretamente ao nível das microvilosidades, provocando a sua destruição devido à formação de poros nas células, aumentando a secreção de fluido e consequente resposta inflamatória (Tomás, 2012; Valério, Chaves & Tenreiro, 2010). Este fator de virulência foi identificado na espécie *Aeromonas hydrophila*, o qual demonstrou ser capaz de causar citotoxicidade, enterotoxicidade e hemólise, sendo por isso muitas vezes associado à aerolisina (Chopra & Houston, 1999; Khajanchi et al., 2010).

As enterotoxinas citotônicas, ao contrário das citotóxicas, não degradam as células do intestino mas aumentam a libertação de fluidos para o lúmen intestinal (Chopra et al., 2009; Sha, Kozlova & Chopra, 2002). Nas espécies do género *Aeromonas* foram identificadas as duas enterotoxinas citotônicas, a Alt e a Ast. A primeira aumenta a produção de 5'-monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) e prostaglandinas nas células do intestino de ratos, aumentando a secreção de fluidos, ao passo que a segunda ainda não foi caracterizada (Chopra, Peterson, Xu, Copenhagen & Houston, 1996; Sha et al., 2002).

Um estudo realizado por Sha e colaboradores (2002) que pretendia analisar individualmente a função das três enterotoxinas de *Aeromonas hydrophila* no trato gastrointestinal de um rato, identificou que a Act foi capaz de desenvolver uma maior resposta na libertação de fluidos, seguida da Alt e Ast; supondo assim, que estas enterotoxinas *in vivo* possam interagir entre si resultando numa alteração na libertação de fluidos.

##### 4.1.2.2. Hemolisinas

A patogenicidade das espécies do género *Aeromonas* tem sido muito associada à atividade hemolítica de algumas toxinas (Wang et al., 2003). As hemolisinas formam

poros nas células do hospedeiro tendo a capacidade de lisar diversos tipos de células para além dos glóbulos vermelhos, favorecendo desta forma a invasão da bactéria (Wilson et al., 2002). As bactérias do género *Aeromonas* sintetizam diversos tipos de hemolisinas  $\alpha$  e  $\beta$ , sendo que a  $\alpha$  é citotóxica com atividade reversível ao passo que a  $\beta$  provoca lise total da célula (Thelestam & Ljungh, 1981). Diversas hemolisinas têm sido identificadas em espécies de *Aeromonas* como as hemolisinas codificadas pelo gene *hlyA*, gene *ahh1* e gene *asa1*, e a aerolisina (codificada pelo gene *aera*) (Erova et al., 2007; Wang et al., 2003).

A aerolisina, como referido anteriormente, tem uma atividade semelhante à enterotoxina citotóxica Act, formando um poro na membrana da célula do hospedeiro que leva a alteração da estabilidade da mesma e consequente lise (Martin-Carnahan & Joseph, 2005). Um estudo realizado por Bückner e colaboradores (2011), em células epiteliais do cólon humano, indicou que a aerolisina pode afetar a estabilidade das células epiteliais por alterar a posição das *tight junction* na formação do poro, podendo estar envolvida no processo de lesões no intestino e em feridas, além de dificultar a cicatrização.

Em relação à hemolisina isolada da espécie *Aeromonas sobria*, esta foi capaz de provocar lise dos eritrócitos e aumentar a secreção de fluidos a nível intestinal mas não causou qualquer dano nas células epiteliais desse órgão em ratinhos (Fujii, Nomura & Okamoto, 1999).

Algumas das espécies de onde têm sido isoladas hemolisinas: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas veronii* biovar *sobria*, entre outras (Erova et al., 2007).

#### 4.1.2.3. Toxina Shiga

As toxinas Shiga (Stx) são proteínas muito conhecidas da bactéria *Escherichia coli* enterohemorrágica por provocarem fezes diarreicas e complicações como síndrome urémico hemolítico (SUH) e colite hemorrágica (Mayer, Leibowitz, Kurosawa & Stearns-Kurosawa, 2012). As infeções gastrointestinais por *Aeromonas* têm sido associadas a complicações como a SUH (Figueras et al., 2007).

Estas toxinas, Stx1 (codificada pelo gene *stx1*) e a Stx2 (codificada pelo gene *stx2*) ambas com variantes, atuam por inibição da síntese proteica e se o tempo de infeção se prolongar podem ainda causar a morte programada das células (Bergan, Linglem, Simm, Skotland & Sandvig, 2012).

As duas toxinas foram recentemente identificadas e sequenciadas em espécies de *Aeromonas*, apresentando elevada semelhança com as toxinas produzidas por *Escherichia coli* (Alperi & Figueras, 2010; Bergan et al., 2012). É de salientar que no mesmo estudo, as espécies em que ocorreu maior predomínio de Stx1 foram *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas veronii*, as principais espécies envolvidas nas infecções gastrointestinais (Alperi & Figueras, 2010; Janda & Abbott, 1998).

#### 4.1.3. Outras enzimas extracelulares

As enzimas extracelulares são utilizadas pelas bactérias para deteriorar determinadas substâncias das células do ser vivo infectado (Wilson et al., 2002). Muitas dessas enzimas são consideradas fatores de virulência e estão presentes nas espécies de *Aeromonas* como as lipases, a amilase, a gelatinase, a protease, as nucleases (ADNase e ARNase), a lecitinase e a quitinase (Nam & Joh, 2007; Puthuchearry et al., 2012). Atendendo à grande variedade de enzimas extracelulares em *Aeromonas*, apenas vai ser dado maior destaque à lipase e às proteases.

##### 4.1.3.1. Lipase

A **lipase** (genes associados *pla/lip/lipH3/alp-1*) é uma enzima que tem ação nos triglicéridos, hidrolisando-os nas suas unidades principais (Kingombe et al., 2010; Sirisha, Rajasekar & Narasu, 2010). Esta enzima é capaz de nutrir a bactéria e alterar as funcionalidades do sistema imunitário do hospedeiro (Tomás, 2012). Em *Aeromonas*, uma das lipases é uma fosfolipase designada aciltransferase glicerofosfolípido:colesterol (ATGC) que degrada as membranas do glóbulo vermelho do hospedeiro e consequente deterioração, não tendo sido ainda caracterizada a sua função em hospedeiros humanos (Chopra et al., 2009). A ATGC foi identificada em *Aeromonas salmonicida* causando furúnculos em peixes (Onuk et al., 2013).

##### 4.1.3.2. Proteases

As **proteases** estão divididas em vários grupos como as proteases aspárticas, proteases de serina, metaloproteases entre outras (Page & Cera, 2008). A atuação das proteases pode afetar o hospedeiro de diversas formas: coadjuvam a ludibriar o sistema imunológico e provocam lesão nos tecidos auxiliando a bactéria na invasão (Chopra et al., 2009). Estas enzimas têm sido indicadas como uma das grandes causas de alteração nos tecidos para conferir a infeção em peixes (Pandey, Naik & Dubey, 2010).

Neste grupo de enzimas têm sido identificadas nas espécies de *Aeromonas* as metaloproteases e as proteases de serina (gene associado *aspA*) (Martin-Carnahan & Joseph, 2005; Senderovich et al., 2012). Num estudo *in vitro* que objetivou caracterizar as duas proteases, mostrou que a metaloprotease tem ação sobre a caseína e a elastina ao passo que a protease de serina apenas tem ação sobre a caseína (Esteve & Birbeck, 2004). Mais tarde, um estudo realizado por Nitta e colaboradores (2007) demonstrou que a protease de serina secretada por *Aeromonas sobria* pode estar relacionada com a formação de trombos, por formar um fragmento a partir da protrombina semelhante à  $\alpha$ -trombina e desta forma estar inferida na coagulação disseminada. Em contraste num outro estudo, os investigadores mostraram evidências de que a protease de serina da mesma espécie tem a capacidade de deteriorar o fibrinogénio e consequentemente poder provocar hemorragias que podem estar envolvidas na septicemia (Imamura, Nitta, Wada, Kobayashi & Okamoto, 2008). Torna-se notório que esta contradição necessita de mais investigação. As aminopeptidases são outras enzimas também presentes nas espécies de *Aeromonas* e algumas destas têm como função a ativação da toxina aerolisina a nível extracelular (Pemberton, Kidd & Schmidt, 1997).

#### 4.1.4. Sistemas de secreção

As bactérias de Gram negativo têm a capacidade de secretar proteínas para o meio extracelular ou superfície da célula utilizando vários mecanismos que estão numericamente identificados: Tipo I, Tipo II Tipo III, Tipo IV, Tipo V e Tipo VI (Lee & Schneewind, 2001; Tseng, Tyler & Setubal, 2009). As diferenças entre os distintos tipos de sistema de secreção estão relacionadas com a proteína transportadora, com o tipo de moléculas e reações químicas envolvidas no transporte (Tomás, 2012).

Dois tipos de sistemas de secreção de proteínas têm sido frequentemente associados a *Aeromonas*, o Tipo III e o Tipo VI (Parker & Shaw, 2011). O sistema Tipo III, também conhecido por “*injectisome*”, por formar uma estrutura idêntica a uma agulha com mais de 20 componentes, permite à bactéria transportar através da sua membrana celular proteínas (efetores) e segrega-las diretamente no citoplasma da célula hospedeira (Gerlach & Hensel, 2007; Tseng et al., 2009) (Figura 3). Essa estrutura em forma de agulha localizada entre o citoplasma e a membrana externa da célula bacteriana, é como que ativada após proximidade da célula hospedeira, sendo de seguida promovido todo o mecanismo de exportação dos efetores (Tomás, 2012). Assim, este sistema é bastante útil para os fatores de virulência do microrganismo pois

podem ser facilmente introduzidos na célula hospedeira (Krzymińska, Mokracka, Koczura, Ćwiertnia & Kaznowski, 2012).

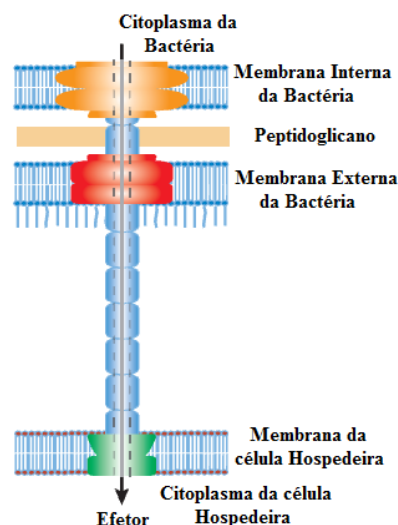


Figura 3 - Representação esquemática do sistema de secreção Tipo III. Adaptado de (Coburn, Sekirov & Finlay, 2007).

Os microrganismos do género *Aeromonas* utilizam este mecanismo para libertar algumas das suas toxinas como por exemplo a toxina AexU. Esta toxina, com função enzimática de adenosina difosfato (ADP)-ribosiltransferase, exibiu alteração da morfologia da célula e lise da mesma, com possível ação na morte programada das células do hospedeiro (Sierra et al., 2007). Outros efetores do sistema de secreção Tipo III têm sido identificados em *Aeromonas salmonicida* como o AexT, (função enzimática de ADP-ribosiltransferase; altera a morfologia das células), também encontrado em *Aeromonas hydrophila*, o AopP (interfere com a resposta imunitária do hospedeiro) o AopH, e o AopO (o papel dos dois últimos ainda não foi determinado) (Tomás, 2012; Vilches et al., 2008).

Relativamente ao sistema de secreção Tipo VI, sabe-se que tem semelhanças com o Tipo III e o Tipo IV, ao secretar os efetores quer para a célula do hospedeiro quer para o meio envolvente, mas do funcionamento da estrutura em si ainda pouco se sabe. (Suarez et al., 2010). A bactéria *Aeromonas hydrophila* foi uma das bactérias capaz de utilizar este sistema (Parker & Shaw, 2011). Recentemente foi identificado um efector deste sistema, o VgrG1 na estirpe *Aeromonas hydrophila* SSU, que, ao que tudo indica, poderá atuar na degradação da estrutura polimérica da actina com potencial alteração do epitélio intestinal (Suarez et al., 2010). Um estudo realizado por Suarez e colaboradores (2008) identificou dois genes, *vasH* e *vasK*, que são fundamentais para o funcionamento

do sistema de secreção Tipo VI, isto porque quando esses dois genes estavam mutados apresentavam menor toxicidade em macrófagos de ratinhos e células HeLa.

Para além destes dois sistemas de secreção aqui mencionados, é de salientar que a enterotoxina citotóxica Act é secretada por *Aeromonas hydrophila*, por intermédio do sistema de secreção Tipo II (Sierra et al., 2007). Este sistema também é dotado de uma estrutura que atravessa as membranas da célula bacteriana, mas o mecanismo de secreção das moléculas efetoras envolve dois passos: primeiramente o efetor é transportado do citoplasma da célula bacteriana para o periplasma e só no segundo passo é que o efetor atravessa a membrana externa da bactéria e atinge o meio extracelular (Douzi, Filloux & Voulhoux, 2012).

Os sistemas de secreção são particularmente importantes na interação bactéria-hospedeiro (Gerlach & Hensel, 2007).

#### 4.1.5. Quorum Sensing

O Quorum Sensing (QS) é um sistema que regula a expressão de genes com base nas condições fisiológicas em que a bactéria se encontra (como a elevada densidade populacional), sendo muito importante no controlo da virulência da bactéria (Sifri, 2008). Em várias bactérias de Gram negativo, a regulação é feita por meio de moléculas sinalizadoras como a lactona N-acetilhomoserina (AHL) que é originada por uma sintetase tipo-LuxI e é reconhecida pelo recetor tipo-LuxR que ativa a transcrição dos genes (Blackwell & Fuqua, 2011; Chopra et al., 2009). Assim, quando ocorre expansão organizada da população bacteriana e se atinge a concentração mínima da molécula sinalizadora, a expressão dos genes que codificam para os fatores de virulência, por exemplo, é ativada (Chan et al., 2011; Sifri, 2008). Nas espécies *Aeromonas salmonicida* e *Aeromonas hydrophila* foi detetada uma molécula sinalizadora do QS, a lactona N-butil-L-homoserina (C4-HSL), sendo sintetizada pelas sintetases AhyI/AsaI respetivamente e reconhecida pelos recetores AhyR/AsaR respetivamente (Swift et al., 1997). Um estudo realizado por Natrah e colaboradores (2012) concluiu que as espécies de *Aeromonas* que continham o QS mutado (desativação da sintetase e do recetor da AHL) eram menos virulentas para as larvas do peixe lota em comparação com o QS não mutado, sugerindo que este sistema possa ser essencial na regulação dos fatores de virulência das espécies de *Aeromonas*. Um outro estudo indica que o facto de o QS estar intimamente relacionado com número de bactérias e consequentemente com a concentração de AHL, este último pode ser proveitoso como marcador para detetar

pacientes infectados por bactérias que possuam este sistema, como *Aeromonas* (Chan et al., 2011).

Assim, o QS permite que os genes sejam expressos no momento em que são mais indicados (Khajanchi et al., 2010). Todo o mecanismo de regulação de genes aponta para que as bactérias passem despercebidas às defesas do hospedeiro até atingirem um número satisfatório na população para causarem infecção/doença (Chan et al., 2011).

#### **4.1.6. Sideróforos**

Muitos metais são essenciais nos processos metabólicos das células e indispensáveis à sobrevivência das mesmas. O ferro é um desses metais, um cofator de muitas reações enzimáticas (Schalk, Hannauer & Braud, 2011).

Os sideróforos estão presentes em vários organismos vivos dos quais as bactérias estão incluídas. São compostos que têm uma elevada preferência para o ferro na forma de íon trivalente, com o qual complexam. Quando os níveis desse metal se encontram diminuídos algumas bactérias desenvolvem sideróforos em resposta às suas necessidades (Chu et al., 2010). Essa situação é muito frequente quando as bactérias colonizam o hospedeiro, os sideróforos vêm-se obrigados a competir com outros compostos do hospedeiro que se ligam ao ferro como a hemoglobina, transferrina, lactoferrina e a ferritina (Miethke & Marahiel, 2007). As bactérias do gênero *Aeromonas* são microrganismos possuidores de diferentes tipos de sideróforos, a enterobactina e a amonabactina, mas *Aeromonas* mesófilas não os apresentam em simultâneo (Chopra et al., 2009; Martin-Carnahan & Joseph, 2005). Têm sido identificados genes de biosíntese de sideróforos em *Aeromonas salmonicida* como o *asbC*, *asbD* e o *asbG*, indicando a necessidade da bactéria sintetizar sideróforos quando as concentrações de ferro são deficientes, sendo um potencial fator de virulência para peixes (Najimi, Lemos & Osorio, 2008). O microrganismo *Aeromonas salmonicida* exibe também um transportador de sideróforos na membrana celular tipo ABC (*ATP-binding cassette*), designado AsbJ, sendo essencial para o transporte do ferro férrico na bactéria. Essa proteína poderia ser um alvo terapêutico em peixes infectados por *Aeromonas salmonicida* (Najimi, 2012).

Os sideróforos são muito importantes para o crescimento e manutenção da célula bacteriana em ambientes com déficit de ferro, contribuindo desta forma para a virulência do patogénico (Tomás, 2012).

#### 4.1.7. Adesinas

Uma das fases chave para promover a infecção é a adesão (Niemann, Schubert & Heinz, 2004). Diversos compostos são utilizados pela bactéria para promover a adesão desta ao hospedeiro, através da interação com os recetores da célula eucariótica ou com outras moléculas (Kline, Fälker, Dahlberg, Normark & Henriques-Normark, 2009). Estes compostos de adesão podem ser constituídas quer por proteínas quer por hidratos de carbono (Wilson et al., 2002). As adesinas proteicas podem ser divididas em dois grupos: as filamentosas e as não filamentosas, ambas presentes em *Aeromonas* e que passarão, de seguida, a ser descritas (Gerlach & Hensel, 2007).

##### 4.1.7.1. Adesinas filamentosas: Píli/Fímbrias

Os píli/fímbrias são estruturas filamentosas constituídas por pilina que se encontram ancoradas à membrana celular da bactéria, contribuindo para diversas características e funções da mesma, para além da adesão, como a formação de biofilmes (Proft & Baker, 2009). Existem vários tipos de píli: píli tipo IV (a e b), píli curli, píli “via *chaperone-ushe*” (píli tipo I e píli-P) e píli CS (Gerlach & Hensel, 2007).

Em *Aeromonas* foram visualizados pílis curtos e rígidos em maior proporção que os pílis longos e ondulados. Os primeiros são capazes de se auto-agregarem ao passo que os segundos estão envolvidos na ligação das células (Kirov, Jacobs, Hayward & Hapin, 1995). Em relação aos tipos de pílis, dois pílis tipo IV foram identificados em *Aeromonas*, o Bfp (*bundle-forming pili*) e o Tap (*type IV Aeromonas pili*) com envolvimento a nível gastrointestinal. Contudo o píli Tap parece ter uma menor contribuição na adesão em comparação com o píli Bfp (promove também interligação das bactérias) (Kirov, Barnett, Pepe, Strom & Albert, 2000; Kirov, O'Donovan & Sanderson, 1999). É importante salientar que as sequências de pilina do píli Bfp evidenciam alguma semelhança com as do píli MSHA (*mannose-sensitive hemagglutinin*) do *Vibrio cholerae* (Martin-Carnahan & Joseph, 2005). O gene *flp* de um terceiro píli pertencente ao píli tipo IV foi identificado em *Aeromonas*, píli Flp, julgando-se que o seu tributo na patogenicidade da bactéria seja insignificante. Recentemente foi caracterizado geneticamente o píli Bfp, com diferentes genes descritos, sendo que cada um dos genes apresenta menor ou maior contribuição na adesão, confirmando mais uma vez que este píli é um importante elemento na adesão da bactéria (Hadi et al., 2012).



#### **4.1.7.2. Adesinas não filamentosas**

As adesinas não filamentosas são componentes que se encontram à superfície da célula bacteriana contribuindo para a adesão (Gerlach & Hensel, 2007). As bactérias *Aeromonas* são microrganismos possuidores de elementos que se encaixam nesta categoria como o LPS, lectinas e a camada S (Kozínska & Pękala, 2012; Turska-Szewczuk et al., 2013).

#### **4.1.8. Mobilidade**

De forma a adaptar-se às condições externas a que a célula bacteriana está sujeita, esta desenvolveu estratégias de sobrevivência. As bactérias, consoante a superfície onde se encontram, podem formar biofilmes ou deslocarem-se para outras áreas. A mobilidade é um aspeto fundamental para a deslocação dos microrganismos e está fortemente aliada ao gradiente químico e à nutrição da bactéria (Harshey, 2003). Como tal, algumas bactérias desenvolveram estruturas de locomoção como os flagelos que podem ser caracterizados em vários tipos (Bardy, Ng & Jarrell, 2003). Além disso, estes flagelos podem ter uma participação importante na virulência através da interação com o hospedeiro, como mecanismo de adesão e invasão (Duan, Zhou, Zhu & Zhu, 2013).

##### **4.1.8.1. Flagelos**

Os flagelos são estruturas envolvidas na mobilidade que se encontram melhor caracterizadas. Toda a sua composição permite movimentos de rotação e propulsão para a deslocação da bactéria. Existem vários tipos de flagelos, dos quais se destacam os polares e laterais (Bardy et al., 2003). Nas espécies de *Aeromonas*, estão presentes estes dois tipos de flagelos, o polar (codificado pelo gene *fla*) e lateral (codificado pelo gene *laf*), contribuindo para a adesão no trato gastrointestinal do hospedeiro bem como no biofilme (Senderovich et al., 2012). Um estudo realizado por Santos e colaboradores (2011) determinou que os dois tipos de flagelos (polar e lateral) de *Aeromonas caviae* são importantes na formação de biofilmes especialmente no hospedeiro humano e nos alimentos. Os biofilmes podem ter um papel relevante na patogenicidade das bactérias sobretudo na colonização (Figura 4) (Gerlach & Hensel, 2007).

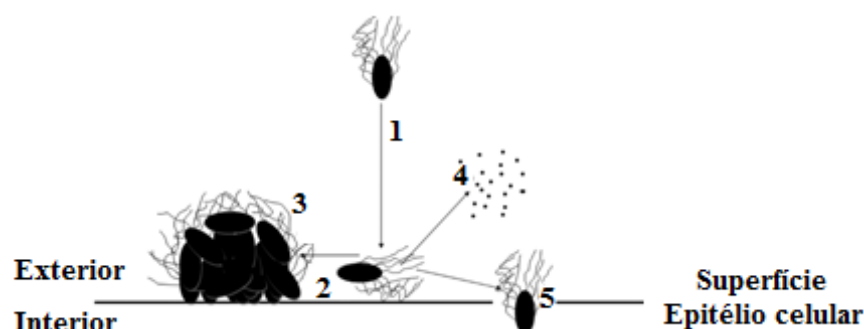


Figura 4 - Flagelos na patogênese bacteriana. (1) Movimentação da bactéria com auxílio dos flagelos para o local de colonização. (2) Mobilidade na colaboração da adesão da bactéria ao epitélio. (3) Ação dos flagelos na formação do biofilme. (4) Colonização estabelecida por haver liberação dos fatores de virulência (pontos pretos). (5) Flagelos na invasão da bactéria. Adaptado de (Duan et al., 2013).

Assim, as adesinas e os flagelos facilitam a adesão, colonização e invasão nas células do hospedeiro. Os sideróforos auxiliam a bactéria na multiplicação ao passo que a camada S, a cápsula e o LPS contribuem para proteger e resistir ao sistema imunológico. O QS assegura o controle dos genes e os sistemas de secreção libertam moléculas e permitem a interação com o hospedeiro. As toxinas bem como as outras enzimas extracelulares degradam as células do hospedeiro e consequente a morte das mesmas. Tendo em conta a contribuição de todos estes fatores de virulência parece claro afirmar que *Aeromonas* têm um potencial patogénico.

#### 4.2. Processo de Invasão

O mecanismo de patogênese de *Aeromonas* ainda não foi determinado e conforme referido anteriormente não existe um modelo animal adequado para o estudo desta bactéria. No entanto, permanece a questão de como esta bactéria consegue realmente colonizar, aderir, invadir e multiplicar-se no sistema gastrointestinal. Com base na patogênese de outras enterobactérias e nos fatores de virulência presentes em *Aeromonas*, descreve-se em seguida, um possível mecanismo de invasão para esta bactéria relativamente às infeções gastrointestinais (gastroenterite).

As bactérias enteropatogénicas são possuidoras de vários mecanismos para causarem infeção gastrointestinal. Uma das primeiras estratégias passa por superar o pH ácido do estômago (Reis & Horn, 2010). Como é de conhecimento geral, o baixo pH do estômago tem como função primordial a defesa do sistema fisiológico contra os microrganismos que possam ser ingeridos. Um pH do estômago inferior a 4 resulta na morte de bactérias intolerantes ao ácido em cerca de 15 minutos (Giannella, Broitman &

Zamcheck, 1972). Todavia, bactérias como *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium e *Yersinia enterocolitica*, têm a capacidade de tolerar o ambiente ácido do estômago e causar infecção (Audia, Webb & Foster, 2001; Tennant et al., 2008). Ao que tudo indica, *Aeromonas hydrophila* tem a capacidade de tolerar um pH de cerca de 3,5, mas para tal esta tem de ser exposta previamente a pH de 5. Essa exposição é necessária para que a bactéria sintetize proteínas imprescindíveis à sobrevivência da célula em tais condições. Esta tolerância adaptativa ao pH ácido pode ser o mecanismo pelo qual *Aeromonas* ultrapassam esta barreira fisiológica, sendo necessários mais estudos (Karem, Foster & Bej, 1994). Todavia, já foi descrito que *Aeromonas* têm maior propensão para colonizar o trato gastrointestinal de indivíduos com pH mais elevado (Ho et al., 2011).

Após passagem pelo estômago, a bactéria tem de progredir para alcançar o epitélio intestinal para que ocorra a adesão. Aqui, fatores como as adesinas e flagelos facilitam tal ocorrência, como já verificado em outras bactérias enteropatogênicas, como exemplo *Escherichia coli* enteropatogênica e *Salmonella enterica* (Reis & Horn, 2010). Tais fatores de virulência foram já descritos em *Aeromonas*.

Estabelecida a colonização do epitélio, *Aeromonas* necessita de sintetizar os fatores essenciais para invadir as células do hospedeiro, destruindo-as (Chuang et al., 2011). Tais fatores incluem as toxinas e as enzimas extracelulares, tendo o hospedeiro como resposta a libertação de mediadores, inflamação e libertação de fluidos (fezes diarreicas) (Guerrant, Steiner, Lima & Bobak, 1999). Os sistemas de secreção também têm um grande contributo nesta fase, libertando moléculas diretamente na célula do hospedeiro (Reis & Horn, 2010). Além disso, a bactéria pode possuir determinadas características para escapar ao sistema imunitário do hospedeiro (Moal & Servin, 2006), nomeadamente a camada S, a cápsula e o LPS no que respeita a *Aeromonas*.

Depois de invadir o hospedeiro, os microrganismos podem multiplicar-se nos tecidos e até mesmo disseminar para outros órgãos (Reis & Horn, 2010).

## 5. Infeções Humanas

As espécies de *Aeromonas* são conhecidas por causarem uma grande multiplicidade de infeções/doenças em seres humanos: infeções gastrointestinais, infeções de pele e tecidos moles que podem progredir para celulite, miosite necrosante ou fascíte necrosante; infeções intra-abdominais das quais se destacam a peritonite e a colangite aguda; infeções respiratórias como a pneumonia; em caso de disseminação pode ocorrer meningite e endocardite; infeções oculares e do trato urinário, meningite e a complicação mais grave que pode advir das infeções e que normalmente está associada a comorbidades do hospedeiro, a septicemia (Igbinosa et al., 2012; Janda & Abbott, 2010). Os principais microrganismos envolvidos nestas infeções humanas, cotados em 85% do total das amostras clínicas são *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* e *Aeromonas veronii* biovar *sobria* (Janda, 1991).

As bactérias do género *Aeromonas* têm a capacidade de infetar todas as faixas etárias (maior evidencia em crianças e idosos), tanto imunocompetentes como imunocomprometidos em países desenvolvidos e subdesenvolvidos, com maior predomínio de infeções nas épocas do ano mais quentes (Farmer III et al., 2006; Ghenghesh et al., 2008). As fontes de infeção podem ter diversas origens, como o consumo de alimentos e águas contaminados, atividades aquáticas (desportos e atividade piscatória) através de escoriações e até mesmo por pré-afogamento, e contato com animais (Figura 5).

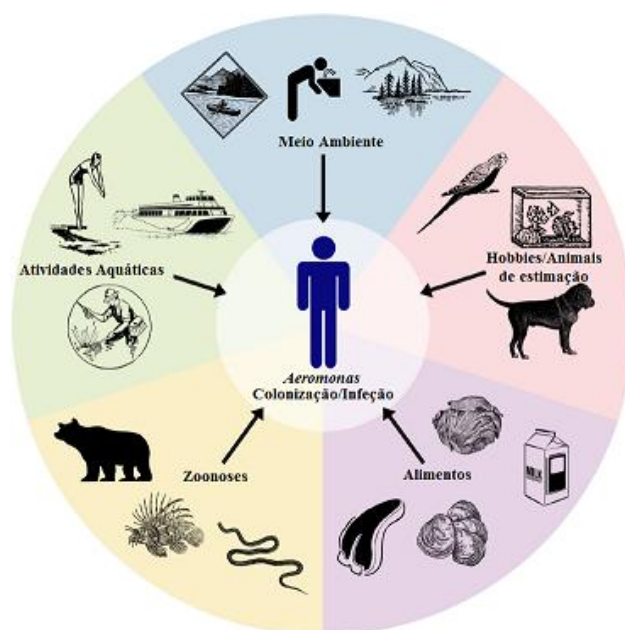


Figura 5 - Possíveis fontes de infeção/colonização, por *Aeromonas*, para o Homem. Adaptado de (Janda & Abbott, 2010).

### 5.1. Gastrointestinais

Têm persistido algumas dúvidas em relação à etiologia gastrointestinal por *Aeromonas* devido a uma série de situações, das quais se destacam: o facto de existirem poucos surtos descritos dos quais *Aeromonas* é o agente causador e o facto de indivíduos assintomáticos conterem a bactéria nas fezes. No entanto, na literatura têm sido relatados casos clínicos de pacientes com perturbações gastrointestinais devido a *Aeromonas* (Edberg et al., 2007; Khajanchi et al., 2010). Alguns investigadores colocam a hipótese de que apenas algumas estirpes de *Aeromonas* com determinadas características de virulência são passíveis de causar infeção/doenças, tal como acontece com outros agentes patogénicos como *Escherichia coli* (Farmer III et al., 2006; Kelly, Koehler & Ashdown, 1993).

As infeções gastrointestinais são o tipo de infeção mais prevalente, sobretudo devido à ingestão de produtos alimentares dos quais se inclui a água, sendo os principais microrganismos responsáveis pela doença/infeção *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* biovar *sobria* e *Aeromonas caviae* (Janda & Abbott, 1998; Parker & Shaw, 2011; Prediger et al., 2012). A formação de fezes diarreicas está fortemente implicada na infeção, ostentando um intervalo de 2,1-10,8% de presença da bactéria nas fezes diarreicas a nível mundial (Khajanchi et al., 2010). As infeções gastrointestinais por este microrganismo em países desenvolvidos ocorre na maioria das vezes em indivíduos que realizam viagens a países subdesenvolvidos onde esta infeção é mais recorrente (Farmer III et al., 2006). Assim, *Aeromonas* são muitas vezes associadas à diarreia do viajante (*Aeromonas veronii* biovar *sobria* e *Aeromonas caviae*, as mais frequentes) mas também são capazes de afetar outros grupos da população como a geriatria e a pediatria (*Aeromonas caviae* a mais corrente neste último), indivíduos com antecedentes gástricos bem como indivíduos com o sistema imunológico debilitado como os portadores de síndrome da imunodeficiência adquirida (Graevenitz, 2007; Parker & Shaw, 2011; Prediger et al., 2012). Um estudo retrospectivo realizado em Cuba, que teve como base estudos de caso-controlo enunciou *Aeromonas* spp. como responsável por cerca de 7,15% das fezes diarreicas em crianças com menos de 5 anos, unicamente ultrapassada por *Shigella* spp. com cerca de 18%, sendo *Aeromonas caviae* a espécie mais isolada (34,3%) (Bravo et al., 2012). Numa unidade hospitalar em Espanha foi determinada a prevalência de *Aeromonas* em 863 indivíduos com diarreia do viajante, vindos de várias áreas geográficas. Os resultados mostraram que cerca de 2% das amostras continham *Aeromonas*. As espécies em maior evidência foram *Aeromonas*

*veronii* biovar *sobria* e *Aeromonas caviae* (Vila et al., 2003). Estes estudos vão ao encontro com o que foi mencionado anteriormente.

O sintoma gastrointestinal mais comum é fezes diarreicas, que podem ir da forma autolimitante, à subaguda ou crónica sendo as duas últimas menos frequentes (Lamps, 2010). O tempo de duração da diarreia é variável, pode ir de dias, a semanas e até meses, mas normalmente em crianças o tempo de duração é de 2 a 10 dias e nos viajantes é 1 a 2 dias (Ghenghesh et al., 2008; Graevenitz, 2007; Janda & Abbott, 2010). Quanto à consistência, as fezes podem variar de moles a aquosas e por vezes com a presença de sangue e muco (disenteria) (Parker & Shaw, 2011). Os outros sintomas associados a este tipo de infeção são diversos, desde febre, cólicas abdominais, vómitos e consequentemente desidratação (Ghenghesh et al., 2008).

Recentemente, foi documentado na China, mais concretamente na cidade de Xingyi, um surto alimentar por *Aeromonas hydrophila* que possivelmente teve origem na água (proveniente de um tanque) utilizada para lavar os vegetais da salada que foi deixada a 30°C antes de ser servida no refeitório da faculdade. Os sintomas descritos pela grande maioria dos alunos, mais de 200, eram comuns aos indicados anteriormente, febre, cólicas abdominais, vómitos, cefaleias e diarreia (com presença de sangue e muco) com a duração de cerca de uma semana. Apesar de água estar também contaminada com *Escherichia coli*, 3 das 15 amostras de fezes foram apenas positivas para *Aeromonas*. Apesar do estudo apresentar algumas limitações como o baixo número de amostras de fezes e não ter sido possível analisar a salada, esta bactéria é suscetível de ser a principal causa do surto (Zhang et al., 2012).

Já no continente sul-americano, no Brasil, a região de São Bento do Una em Pernambuco evidencia condições sanitárias insuficientes e difícil acesso a água potável, sendo por vezes necessário recorrer a água do rio. Na população desta região foi identificada *Aeromonas* como uma das bactérias envolvidas num surto de fezes diarreicas. As amostras de fezes recolhidas durante cerca de 3 meses demonstraram que 25% apresentavam bactéria enteropatogénica, aproximadamente 19,5% continham *Aeromonas* e que apenas 5,5%, aproximadamente, continham outras bactérias responsáveis por causarem infeções gastrointestinais. É de salientar que neste estudo as espécies de *Aeromonas* em maior evidência foram *Aeromonas caviae* (9,8%), *Aeromonas veronii* biovar *sobria* (3,9%), *Aeromonas veronii* biovar *veronii* (2,6%) (Hofer et al., 2006). É de realçar que os pontos-chave destes estudos estão nitidamente relacionados com as características de *Aeromonas* descritas precedentemente, como a

fonte de infecção, a sintomatologia, o tempo de duração das fezes diarreicas bem como as espécies identificadas.

A indicação de sangue e muco nas fezes diarreicas é indicativo de disenteria, sendo por vezes necessário internamento. Apesar de ser raramente associada a *Aeromonas*, alguns casos têm sido documentados (Janda & Abbott, 2010).

A infecção gastrointestinal por *Aeromonas* pode evoluir para doenças mais graves como a colite, peritonite e colangite (as duas últimas vão ser abordadas nas infeções “Intra-abdominais”) (Parker & Shaw, 2011). Vários tipos de colite têm sido relatados em indivíduos infetados por *Aeromonas*, destacando-se a colite segmentar e a colite crónica que é idêntica à ulcerosa (Ahishali et al., 2007; Lin, 2006).

Além disso, foram também documentadas complicações como SUH por *Aeromonas* (Graevenitz, 2007). Este síndrome é caracterizado por uma série de acontecimentos como a trombocitopénia, anemia hemolítica, microangiopatia trombótica e comprometimento da função renal (Mayer et al., 2012). Uma senhora de 40 anos de idade foi hospitalizada com uma série de sintomas clínicos incluindo diarreia aquosa com a duração de 2 dias. Durante o internamento o seu quadro clínico complicou-se, apresentando diminuição dos níveis de plaquetas e hemoglobina e aumento dos níveis de lactato desidrogenase e creatinina, sendo-lhe detetada uma anemia hemolítica microangiopática e trombocitopénia. A avaliação clínica e laboratorial indicou que o diagnóstico da senhora era SUH por *Aeromonas*, representando o sexto caso de SUH por *Aeromonas* descrito na literatura (Figueras et al., 2007).

Em suma, *Aeromonas* está claramente relacionada com as infeções gastrointestinais quer pelo crescente número de casos quer pelas possíveis complicações que destas advêm. Torna-se assim necessário que este microrganismo faça parte da lista das bactérias enteropatogénicas (Figueras et al., 2007; Janda & Abbott, 2010; Zhang et al., 2012).

## **5.2. Pele e tecidos moles**

As infeções de pele e tecidos moles são as infeções mais recorrentes logo a seguir às gastrointestinais (Parker & Shaw, 2011). Os microrganismos do género *Aeromonas* têm assim a capacidade de provocar uma variedade de lesões após colonização do tecido, como a foliculite, a celulite que pode evoluir para fascíte necrosante, a miosite necrosante (também conhecido por gangrena gasosa), ectima

gangrenosa, artrite séptica e a osteomielite (Avolio, Spisa, Moscariello, Rosa & Camporese, 2009; Huang et al., 2006; Janda & Abbott, 2010; Manresa, Villa, Giralt & González-Enseñat, 2009). A fascíte necrosante apresenta uma taxa de mortalidade de mais de 50% em indivíduos imunocomprometidos, quando *Aeromonas hydrophila* é o agente causador. É necessário que esta complicação seja rapidamente detetada para que se proceda a uma terapêutica eficaz (Liao, Yen & Liu, 2010). No que respeita à miosite necrosante, esta apresenta uma evolução acelerada nos tecidos, com vários sintomas e sinais como a dor, o edema, bolhas serosas com sangue e formação de gás (Ribeiro et al., 2010). Um outro fator importante diz respeito ao facto de as infeções por *Aeromonas* neste local anatómico poderem ser confundidas por outras bactérias como *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp. (Vally, Whittle, Cameron, Dowse & Watson, 2004).

A maioria das infeções de feridas por *Aeromonas* são polimicrobianas, encontrando-se colonizadas por outras bactérias, nomeadamente, bacilos entéricos, *Clostridium* e *Enterococcus* (Parker & Shaw, 2011). As lesões nos tecidos podem formar pústulas, úlceras, edemas e eritemas (Behera et al., 2011; Liao et al., 2010; Vally et al., 2004). Geralmente são lesões do quotidiano que dão origem às infeções por *Aeromonas* que afetam maioritariamente os membros superiores e inferiores (Janda & Abbott, 2010). A manifestação da infeção por *Aeromonas* em feridas surge entre as 8 horas a 1 ou 2 dias após o incidente, apresentando uma evolução muito rápida no tecido (Easow & Tuladhar, 2007). Devido a este facto, os ferimentos da pele e tecidos moles requerem usualmente intervenção cirurgia para remoção dos tecidos necróticos e corpos estranhos, sendo por vezes necessário recorrer a amputação do membro em questão (Orsini & Sakoulas, 2007). Doentes com diabetes mellitus, doença hepática e neoplasias estão também entre os que podem desenvolver infeções de feridas por *Aeromonas*, devido sobretudo ao facto do sistema imunitário do paciente estar debilitado (Chao, Lai, Tang, Ko & Hsueh, 2013; Liao et al., 2010).

Uma simples laceração com ou sem corpos estranhos ou uma fratura exposta podem ser uma das vias para colonização pela bactéria. Estes traumas são sobretudo devidos à prática desportiva, sinistros rodoviários e até mesmo desastres naturais (Janda & Abbott, 2010). Na Austrália foi documentado um surto por *Aeromonas* em indivíduos que tinham praticado futebol de lama. O campo utilizado para a prática desportiva continha pequenos objetos cortantes e era diariamente regado com água proveniente de um rio. A maioria dos jogadores apresentava pequenas escoriações e pústulas, sobretudo



nos membros superiores e inferiores. A nível sintomático alguns indivíduos relataram dores musculares, cefaleias, febre entre outros. As amostras recolhidas de alguns jogadores e da água do rio foram positivas para *Aeromonas hydrophila* (Vally et al., 2004). Relativamente aos sinistros rodoviários, foi recentemente relatado um caso clínico de um senhor de 22 anos que sofreu um ferimento (ligeiramente contaminado com corpos estranhos) no membro inferior direito num acidente com um automóvel todo-o-terreno. Após ter alta o paciente regressou às urgências com sintomas de infeção, ligeiro eritema na zona da lesão e alguns centímetros de pele necrosada. Foi sujeito a uma intervenção cirúrgica ao qual foi retirada amostra para análise laboratorial. Ainda foi necessária uma segunda intervenção cirúrgica devido ao aparecimento de pus no local da lesão. O ferimento estava infetado por dois microrganismos sendo um deles *Aeromonas hydrophila* (Koth, Boniface, Chance & Hanes, 2012). As bactérias do género *Aeromonas* têm sido descritas em alguns indivíduos após catástrofes naturais, nomeadamente furacões e tsunamis (Janda & Abbott, 2010). Exemplo disso mesmo, foi o tsunami que atingiu a Tailândia em dezembro de 2004. A maioria das lesões na pele e tecidos dos indivíduos continham corpos estranhos, tendo estado em contato com água. Em mais de 300 sobreviventes, *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas veronii* biovar *sobria* foram as espécies mais frequentemente isoladas nas lesões dos tecidos, representando cerca de 22,6% (Hiransuthikul, Tantisiriwat, Lertutsahakul, Vibhagool & Boonma, 2005).

As picadas ou mordidas de animais, são outra forma de infeção de pele e tecidos. As cobras transportam muitas vezes *Aeromonas* na flora da mandíbula que após picada no ser humano pode desencadear infeção por este microrganismo (Ghenghesh et al., 2008). Além disso, outros animais selvagens como os ursos, os jacarés, os tubarões e os tigres têm sido associados a infeções de feridas por *Aeromonas* após ataque (Easow & Tuladhar, 2007; Hochedez et al., 2010; Kunimoto, Rennie, Citron & Goldstein, 2004). No Nepal, um senhor com 50 anos de idade foi atacado por um tigre apresentando vários ferimentos nas costas e no antebraço esquerdo, um dos quais, após 3 dias se complicou com a produção de pus. O paciente também apresentava febre. Da amostra colhida da ferida a bactéria identificada foi *Aeromonas hydrophila* e possivelmente teve origem na flora da mandíbula do tigre (Easow & Tuladhar, 2007). Já no Canadá foi registado um ataque de um urso a um caçador de 49 anos que sofreu lesões na cabeça e ombros. As culturas das amostras de feridas identificaram que a infeção era polimicrobiana da qual *Aeromonas hydrophila* fazia parte (Kunimoto et al., 2004).

Outras formas de infecção neste local anatómico são resultantes de operações médicas/terapêuticas como as cirurgias ou tratamentos alternativos com sanguessugas. As infecções subjacentes à intervenção cirúrgica estão normalmente associadas a doenças do sistema digestivo. Além disso as infecções das feridas no pós-operatório estão fortemente ligadas às intervenções a nível abdominal ou pélvico (Tena et al., 2009). No que toca aos tratamentos alternativos, as sanguessugas têm sido utilizadas na congestão venosa após cirurgias plásticas e de reconstrução, mas apresentam risco de infecção para o paciente (Orsini & Sakoulas, 2007). Como referido anteriormente, a sanguessugas têm uma relação de simbiose com determinadas espécies de *Aeromonas* podendo ser uma potencial fonte de contaminação. Exemplo disso mesmo foi a situação vivenciada por dois indivíduos de 35 e 47 anos submetidos a intervenção cirúrgica de reconstrução de uma mão. Para diminuir a congestão venosa foram sujeitos a tratamentos com sanguessugas. As lesões complicaram-se, devido a necrose do tecido. As sanguessugas utilizadas na terapêutica apresentaram resistência à ciprofloxacina, antibiótico utilizado como medida profilática nestes anelídeos. A amostra analisada no laboratório identificou a espécie *Aeromonas hydrophila* como agente etiológico (Sartor, Bornet, Guinard & Fournier, 2013). Situação semelhante envolveu um senhor de 57 anos que após cirurgia e utilização de sanguessugas, desenvolveu infecção polimicrobiana, na qual *Aeromonas hydrophila* estava incluída (Orsini & Sakoulas, 2007).

Por outro lado, as queimaduras podem representar também uma via para a colonização por *Aeromonas*. Têm-se registado várias infecções por *Aeromonas* em queimaduras resultantes de explosões de gás e bombas, descargas elétricas, incidentes comuns do dia-a-dia e ainda de incêndios (Chim & Song, 2007; Kienzle, Muller & Pegg, 2000; Sherry, Padiglione, Spelman & Cleland, 2013). A maioria das infecções por queimaduras resulta da utilização de água contaminada nos primeiros socorros ou por rolamento no solo nos incêndios (Kienzle et al., 2000). Um estudo australiano que procurava investigar a população microbiana das queimaduras das vítimas de incêndios identificou *Aeromonas* como a segunda bactéria mais comum (Sherry et al., 2013). Apesar das infecções por *Aeromonas* em queimaduras serem raras estas podem resultar em complicações graves que podem levar à morte do indivíduo (Janda & Abbott, 2010; Parker & Shaw, 2011).

### 5.3. Intra-abdominais

As infecções intra-abdominais aqui abordadas referem-se às infecções em determinados órgãos do sistema digestivo, designadamente o fígado (incluindo a vesícula biliar), o apêndice e o pâncreas, para além da membrana que reveste os órgãos da cavidade abdominal, o peritoneu. Portanto, neste grupo de infecções vai ser dado destaque às peritonites, colangites, apendicites agudas, abscessos hepáticos e pancreáticos (De Gascun, Rajan, O'Neill, Downey & Smyth, 2007; Tsai, Yeh, Wang, Liu & Chao, 2013; Wu et al., 2009).

A peritonite causada por *Aeromonas* é pouco frequente, sendo esta dividida em 3 tipos clínicos: peritonite bacteriana espontânea, peritonite por perfuração do intestino e ainda peritonite por diálise peritoneal em ambulatório (Huang et al., 2006). A peritonite bacteriana espontânea não é mais do que a presença de um microrganismo no líquido ascítico com origem inexplicável (Carrola, Militão & Presa, 2013). Os indivíduos com comorbidades hepáticas como a cirrose têm sido um alvo bastante acessível para as espécies de *Aeromonas* (Wu et al., 2009). A peritonite bacteriana espontânea por *Aeromonas* associada à cirrose é frequente nos indivíduos do sexo masculino com idades entre os 50 e os 65 anos e com sintomatologia variada como febre, dor no abdómen e alterações psicológicas (Choi et al., 2008; Huang et al., 2006; Wu et al., 2009). Na República da Coreia a prevalência da peritonite bacteriana espontânea por *Aeromonas* em doentes com cirrose é elevada, possivelmente fruto de uma alimentação rica em produtos de origem marinha e também pelo facto de esta bactéria ser muito comum neste país (Choi et al., 2008). Para além da República da Coreia foram também descritos casos de peritonite bacteriana espontânea por *Aeromonas* num país nórdico e em Espanha (Wu et al., 2009).

O Taiwan é um dos outros países bastante afetados por este tipo de infeção (Wu et al., 2009). Nesse mesmo país, mais concretamente na cidade de Taipé, estabelecimentos de venda de produtos alimentícios tinham perto de 90% dos produtos alimentares de origem marinha inquinados por *Aeromonas* (Huang et al., 2006). Um estudo retrospectivo realizado no mesmo país num período de 10 anos em pacientes com cirrose, determinou que a peritonite bacteriana espontânea por *Aeromonas* nestes indivíduos foi mais recorrente no tempo quente. Vários sintomas foram mencionados como febre, dor no abdómen e fezes diarreicas; a bactéria *Aeromonas hydrophila* foi a espécie mais isolada (Choi et al., 2008). Um segundo estudo retrospectivo de 10 anos, também efetuado no Taiwan que visava estabelecer as divergências entre a peritonite

primária (infecção sem origem nos órgãos intra-abdominais) e secundária (resulta da complicação ou trauma de um órgão intra-abdominal; perfuração do intestino, cisão de um abscesso hepático, etc.) por *Aeromonas*, concluiu que a peritonite primária é mais recorrente em indivíduos com cirrose e é predominantemente causada por um único microrganismo, geralmente *Aeromonas hydrophila* (*Aeromonas caviae* e *Aeromonas veronii* biovar *sobria* também estiveram presentes nas amostras do estudo). Já a peritonite secundária está mais ligada a infecções polimicrobianas, que para além de *Aeromonas* incluem *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, outras *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* entre outros. Os principais sintomas mencionados em ambos os grupos foram a febre, a diarreia e o desconforto a nível abdominal. É importante salientar que este tipo de infecções pode progredir para bacteriemia e consequente morte do paciente (Huang et al., 2006).

No que toca à peritonite por diálise peritoneal em ambulatório poucos casos clínicos têm sido descritos (Liakopoulos et al., 2011). Recentemente, uma senhora de 44 anos que realizava diálise peritoneal continua em ambulatório desenvolveu peritonite. Na anamnese foi referido que o cateter da diálise tinha caído na casa de banho. A amostra de fluido ascítico recolhida para análise microbiológica foi positiva para *Aeromonas hydrophila* (Sahin & Barut, 2010). As peritonites por diálise peritoneal continua em ambulatório também podem ser polimicrobianas, tendo já sido descrito um caso que envolveu *Aeromonas hydrophila* e *Streptococcus viridan*, (Liakopoulos et al., 2011).

Relativamente ao sistema hepatobiliar, destaca-se a colangite por *Aeromonas* que é bastante vulgar no continente Asiático. Em Hong Kong têm sido detetados alguns casos (Randive & Mathur, 2012). Por definição a colangite é uma infecção das vias biliares por um microrganismo aliada a uma obstrução no mesmo local (Mosler, 2011). Um estudo retrospectivo de 14 anos, realizado nos Estados Unidos da América identificou que as infecções por *Aeromonas* no sistema hepatobiliar e no pâncreas estavam vulgarmente associadas a pacientes portadores da diabetes mellitus, de doenças oncológicas e ainda doentes transplantados de fígado. A infecção por *Aeromonas* foi sobretudo ao nível biliar com o predomínio da colangite e apenas um caso de pseudoquisto pancreático. Os indivíduos apresentavam obstrução da bÍlis ou do ducto pancreático devido a várias variáveis: colelitÍase ou coledocolitÍase, colangiocarcinoma, neoplasia pancreática, estenose biliar e ainda pancreatite necrosante. Alguns pacientes do estudo adquiriram infecção durante o internamento suspeitando-se que as infecções por

*Aeromonas*, que geralmente estão acompanhadas de outros patogénicos neste tipo de infeção, tenham origem no trato digestivo. Outra possível forma de colonização por *Aeromonas* no sistema hepatobiliar pode estar relacionada com os procedimentos médicos. A bactéria *Aeromonas hydrophila* foi a espécie de *Aeromonas* mais isolada nas amostras (Clark & Chenoweth, 2003).

Na Índia, uma senhora de 34 anos que tinha procedido a uma colecistectomia há 10 anos atrás, apresentava constantes incidentes de vômitos e dor no abdómen nos últimos 3 anos. A paciente continha pedras na vesícula biliar e uma infeção nas vias biliares por *Aeromonas caviae*, apesar de também estar presente *Escherichia coli* na cultura. Julga-se que a infeção possivelmente resultou de procedimentos médicos que podem ter facilitado a colonização da bactéria no sistema biliar (Randive & Mathur, 2012).

Quanto aos abscessos hepáticos por *Aeromonas*, estes estão presentes na maioria das vezes em sujeitos com o sistema imunitário debilitado associado a várias comorbidades como doença hepática e neoplasias ou mesmo obstrução das vias biliares (Parker & Shaw, 2011). Alguns casos clínicos de abscessos hepáticos por *Aeromonas* têm sido relatados mas apenas um foi descrito em relação ao pâncreas. Neste último, um indivíduo de 50 anos com pancreatite crónica e problemas hepáticos apresentava dor no abdómen, perda de peso e hematótese. Durante o internamento o seu quadro clínico piorou acabando por falecer. A autópsia não demonstrou qualquer lesão nos órgãos exceto um abscesso no interior do pâncreas, do qual foi retirada uma amostra de pus para análise laboratorial. Os resultados indicaram a presença de uma bactéria anaeróbica não identificada e de *Aeromonas hydrophila*. Atendendo às avaliações subsequentes a bactéria *Aeromonas hydrophila* foi indicada como causa do abscesso pancreático, que despontou uma septicemia e consequente morte no doente (De Gascun et al., 2007).

Muito recentemente, foi descrito o primeiro caso de apendicite aguda associada a *Aeromonas sobria*. Um indivíduo de 93 anos de idade com dor no abdómen e náuseas foi submetido a uma avaliação clínica e laboratorial. Não foi mencionada na anamnese qualquer envolvimento em atividades aquáticas ou animais marinhos. Detetada a apendicite procedeu-se a uma apendicectomia, sendo o apêndice enviado para análise. A cultura laboratorial foi positiva para *Aeromonas sobria* e *Escherichia coli* (Tsai et al., 2013).

Atendendo aos casos e estudos clínicos aqui descritos, *Aeromonas* demonstra que tem capacidade de causar uma grande variedade de infeções a nível intra-abdominal.

#### 5.4. Infeções respiratórias

Como referido anteriormente, *Aeromonas* são sinónimo de ubiquidade aquática. Dada esta característica é fácil compreender como este microrganismo pode estar associado a infeções respiratórias sobretudo resultantes de inalação de água, como a pneumonia (Igbinosa et al., 2012). Apesar de pouco comuns, alguns casos têm sido relatados, particularmente pneumonias, empiemas, abscessos pulmonares, epiglote e ainda traqueobronquite (Janda & Abbott, 2010). Estes tipos de infeção têm afetado indivíduos imunodeprimidos e imunocompetentes, alguns dos quais com comorbidades associadas. A fonte de infeção está fortemente relacionada com água, quer por pré-afofamento quer por inalação durante as atividades náuticas e aquáticas (Parker & Shaw, 2011).

A pneumonia resulta de uma infeção nos pulmões, que provoca inflamação dos alvéolos pulmonares com a produção de exsudado, podendo ser diferenciada em 3 tipos clínicos, a de ambiente hospitalar, a dos indivíduos imunodeprimidos e ainda a auferida na comunidade (Wilkinson & Woodhead, 2004). Esta patologia pulmonar é a forma de infeção respiratória mais comum causada por *Aeromonas* (Janda & Abbott, 2010).

No sul de Taiwan, entre 2004 e 2011 foram identificados pacientes com pneumonia por *Aeromonas* através da base de dados do hospital. Dos 84 pacientes, 85% apresentava idade superior a 65 anos sendo maioritariamente homens. A sintomatologia mencionada por estes indivíduos era bastante ampla como febre, tosse, dor no tórax ou dispneia e calafrios. As infeções mono e polimicrobianas (presença de outras bactérias para além de *Aeromonas*) por *Aeromonas*, como possíveis causas de pneumonia foram detetadas através das amostras de secreções respiratórias purulentas. Alguns dos pacientes apresentavam doenças subjacentes como cirrose, diabetes mellitus, doença renal, neoplasias, e indivíduos a realizarem terapêutica imunossupressora. Cerca de 70% da população com pneumonia por *Aeromonas* em estudo tinha o sistema imunitário debilitado, além disso aproximadamente 30% dos indivíduos adquiriu a infeção em ambiente hospitalar. Apenas 9,5% da população em estudo apresentava diagnóstico claro de pneumonia por *Aeromonas*, além da bacteriemia e do empiema no tórax provocados pela mesma bactéria. Destes 9,5%, 50% veio a falecer. Dos 84 pacientes, 6

desenvolveram pneumonia por *Aeromonas* devido a afogamento, estando esta situação ligada a uma elevada taxa de mortalidade em indivíduos com cirrose. A espécie mais isolada foi *Aeromonas hydrophila*, mas também estavam presentes no estudo *Aeromonas caviae*, *Aeromonas veronii* biovar *sobria* e *Aeromonas veronii* biovar *veronii* (Chao et al., 2013).

Um estudo realizado em Paris entre 2001 e 2010 registou os pacientes vítimas de afogamento no rio Sena com suspeita de pneumonia. Foram incluídos 37 pacientes com idades entre os 30 e os 48 anos, sendo que 14 faleceram nas 24 horas seguintes ao internamento. Dos 23 indivíduos, 21 (sendo que 2 não eram suspeitos de pneumonia) foram sujeitos a colheita de amostras do lavado broncoalveolar ou aspirado traqueal. Das espécies isoladas, *Aeromonas* spp. foi a mais recorrente, em conjunto com *Haemophilus* spp., cada um presente em 5 casos de pneumonia por afogamento. A *Aeromonas* também estava presente nas amostras de água recolhidas do rio Sena em 2010 (Tadié et al., 2012).

A traqueobronquite é outra forma de infeção respiratória por *Aeromonas*. Na Suíça, um indivíduo de 19 anos imunocompetente foi vítima de pré-afogamento no rio Cassarate (que muito provavelmente continha *Aeromonas*), tendo sido reanimado no local depois de vários minutos submerso. Foi-lhe diagnosticado traqueobronquite aguda por *Aeromonas veronii* biovar *sobria* (bactéria predominante na amostra) e um comprometimento neurológico grave que após suspensão da terapêutica acabou por falecer (Bossi-Küpfer, Genini, Peduzzi & Demarta, 2007).

Um outro evento respiratório desencadeado por *Aeromonas* é a epiglote. Um senhor tailandês de 61 anos com cirrose apresentava febre, odinofagia, disfagia e a voz afetada. Mais tarde o quadro sintomatológico agravou-se com dispneia e febre, edema no pescoço e língua e presença de exsudado. Após avaliação clínica, laboratorial e procedimentos médicos foi-lhe diagnosticado epiglote por *Aeromonas hydrophila* que progrediu para fascíte necrosante nos tecidos do pescoço. A fonte de contaminação deste indivíduo não foi determinada, colocando-se a hipótese de possível transição da bactéria do sistema gastrointestinal por via sistémica (Apisarnthanarak, Pheerapiboon, Apisarnthanarak, Kiratisin & Mundy, 2008).

Os empiemas bacterianos espontâneos são caracterizados por uma infeção no fluido pleural. Este tipo de infeção causada por *Aeromonas* está vulgarmente associada a pacientes com cirrose mas também foi relatada num indivíduo com patologia renal. Supõe-se que a fonte de contaminação possa advir da migração da bactéria do trato

gastrointestinal por via sistêmica com alta pressão na veia porta ou por fluido ascítico infectado na região abdominal (Chen, Huang, Chen, Hsueh & Yang, 2006). Quanto à sintomatologia estes doentes apresentam febre e dispneia, e relativamente à cultura de amostras *Aeromonas hydrophila* é a espécie mais comum (Chen et al., 2006; Kim, Chung & Shim, 2001).

Os abscessos pulmonares são pouco frequentes e definem-se como a produção de pus numa determinada região do pulmão, com morte do tecido pulmonar, o qual pode envolver a formação de cavidades. A sintomatologia desta infeção é sobretudo a nível respiratório como dor no tórax, tosse que pode apresentar expetorações fétidas e sanguinolentas, além da febre. Na anamnese pode ser evidenciado perda de peso (Walters, Foley & Molyneux, 2011). Foi exatamente esta a situação que participou uma idosa de 81 anos quando deu entrada na urgência hospitalar, apresentando dispneia, hemoptise, febre e pesava cerca de 34 quilogramas, tendo sido diagnosticado um abscesso pulmonar por *Aeromonas hydrophila* (Pérez, Novoa & Vidal, 2005).

Apesar de pouco habituais, as infeções respiratórias por *Aeromonas* são diversas podendo evoluir para graves complicações e até mesmo levar à morte do paciente.

## 5.5. Outras infeções

### 5.5.1. Trato urinário

As infeções do trato urinário (ITU) são frequentemente originadas por bactérias podendo causar cistites (a infeção mais habitual), uretrites e até mesmo prostatites dependendo do órgão afetado. A população feminina é a mais associada a este tipo de infeção (Sheerin, 2011). As bactérias do género *Aeromonas* são pouco comuns como agentes etiológicos das ITU existindo escassos casos clínicos na literatura (Mandal et al., 2010). Devido a este acontecimento é difícil caracterizar as ITU por *Aeromonas*. No entanto, com a informação disponível, *Aeromonas caviae* e *Aeromonas hydrophila* ostentam ser as espécies mais frequentes. Além disso as espécies *Aeromonas veronii* biovar *sobria*, *Aeromonas popoffii* e *Aeromonas schubertii* também já foram isoladas neste tipo de infeção (Chao, Gau & Lai, 2012). Atendendo aos fatores de virulência descritos anteriormente, pressupõe-se que as fímbrias e as hemolisinas possam ter um papel preponderante na colonização do trato urinário por esta bactéria, como acontece com *Escherichia coli*, microrganismo bastante comum nas ITU (Al-Benwan, Abbott, Janda, Huys & Albert, 2007; Mandal et al., 2010; Sheerin, 2011).



As ITU por *Aeromonas* podem afetar tanto indivíduos com o sistema imunitário debilitado como indivíduos saudáveis, com ou sem comorbidades associadas, desde cirrose, diabetes mellitus, doença renal, neoplasias assim como doentes a fazer terapêutica imunossupressora (Chao et al., 2012).

As cistites apresentam uma grande diversidade de sintomas como disúria, dor na região suprapúbica, hematúria, micção frequente, e menos comumente febre, náuseas e vômitos (Sheerin, 2011). Esta infeção já foi relatada na literatura devido a espécies de *Aeromonas*, como o caso clínico decorrido em Bangladeche, num paciente imunocompetente de 39 anos com disúria, hematúria, micção frequente e perda de peso, num período de 2 meses. Na avaliação médica, o indivíduo apresentava alguma suscetibilidade na zona suprapúbica. Após colheita e análise da urina foi detetada *Aeromonas caviae* como agente etiológico da cistite (Al-Benwan et al., 2007).

Um outro caso de ITU por *Aeromonas popoffii* foi detetado em 2003 numa criança de 13 anos. O menino apresentava alguns problemas de saúde os quais envolviam o não correto funcionamento da bexiga. Após intervenção cirúrgica a que foi sujeito, foi-lhe dada alta com a necessidade de realizar cateterismo vesical intermitente. Alguns dias depois, este foi novamente internado com sintomas de febre e dor na região esquerda. Após avaliação clínica e análise microbiológica à urina foi identificada *Aeromonas popoffii* como causa de infeção urinária (Hua, Bollet, Tercian, Drancourt & Raoult, 2004). A forma de infeção não foi mencionada no caso mas atendendo ao descrito, esta poderá estar relacionada com o uso do cateter.

Recentemente, uma paciente de 18 anos grávida de 12 semanas, sem qualquer patologia subjacente, foi hospitalizada com sintomatologia de febre, aumento da frequência e ardor na micção, além de alguma suscetibilidade na região suprapúbica. Através da análise laboratorial foi identificada *Aeromonas hydrophila* na amostra de urina. O facto de a senhora estar grávida pode ter facilitado a colonização da bactéria no trato urinário devido a possíveis alterações a nível hormonal, no sistema imunitário e dieta alimentar (Ragunathan et al., 2012).

Os casos clínicos de indivíduos saudáveis aqui descritos, a fonte e a forma de infeção são desconhecidas. Várias hipóteses são colocadas, como a possível transição da bactéria do sistema gastrointestinal para o urinário ou até mesmos durante a higienização da zona genital com água inquinada por *Aeromonas*, pois os pacientes dos casos clínicos não tinham presença da bactéria nas fezes (Al-Benwan et al., 2007; Ragunathan et al., 2012).

Relativamente às prostatites, estas apresentam sintomas semelhantes à cistite como a disúria e aumento da frequência em urinar, além de dor a nível do períneo ou do escroto (Sheerin, 2011). Esta infeção já foi desencadeada por *Aeromonas*, designadamente no caso que se segue. Um senhor de 44 anos com problemas de alcoolismo crónico apresentava na urgência hospitalar febre e tensão arterial diminuída. Depois de uma tomografia ao abdómen e uma ultrassonografia transretal, os resultados eram indicativos de prostatite. As amostras de sangue e urina foram positivas para *Aeromonas sobria* sendo-lhe diagnosticado prostatite e septicemia por esta espécie de *Aeromonas*. A forma e a fonte de infeção não foram desvendadas mas o facto de o paciente apresentar problemas alcoólicos, pode ter coadjuvado numa patologia assintomática ao nível do sistema hepatobiliar, tornando este indivíduo mais vulnerável à infeções por este patogénico (Huang, Yu, Huan, Cheng & Chuang, 2007).

É importante salientar que as ITU apesar de raras podem ocorrer em qualquer indivíduo, independentemente da idade que possua (Mandal et al., 2010).

### 5.5.2. Oculares

O olho é um órgão que está facilmente exposto ao meio ambiente podendo ser alvo de colonização por qualquer microrganismo. As formas de infeção são diversas, que podem ir de lesão traumática, a migração do microrganismo de um órgão adjacente infetado ou através da via sistémica. Vários agentes etiológicos podem causar infeções oculares dos quais as bactérias não são exceção (Sharma, 2012). As bactérias *Aeromonas* são responsáveis por provocar diversos tipos de infeções oculares, das quais se destacam, as endoftalmites endógenas, queratites (úlceras da córnea) bem como as conjuntivites (Khan, Walters & Metcalfe, 2007; Puri, Bansal, Dinakaran & Kayarkar, 2003).

As queratites bacterianas são infeções que ocorrem a nível da córnea. A colonização por bactérias pode ser facilitada por lesões traumáticas bem como pelo uso de lentes de contato, devido a uma incisão no epitélio da córnea. Clinicamente esta infeção ocular pode causar dor, redução da visão, vermelhidão, fotofobia e edema da conjuntiva (Al-Mujaini, Al-Kharusi, Thakral & Wali, 2009). Um caso clínico de queratite por *Aeromonas* foi causado por falta de higienização do recipiente das lentes de contato. Além disso, o indivíduo de 35 anos que apresentava bilateralmente dor e vermelhidão, referiu que por vezes utilizava água canalizada para a lavagem das lentes. Após análise das amostras recolhidas da conjuntiva, da córnea e das lentes de contato,

foi identificada *Aeromonas caviae* em todas as culturas. Assim, supõe-se que a água utilizada para higienização das lentes possa ter sido o meio de propagação do recipiente das lentes. Há vários fatores de virulência que podem contribuir para a colonização da córnea por *Aeromonas*, são eles o pílí Tap que promove a adesão ao epitélio, a gelatinase, as proteases e ainda as toxinas citolíticas que em conjunto com as lesões traumáticas permitem a descontinuação do epitélio da córnea e consequente invasão (Pinna, Sechi, Zanetti, Usai & Carta, 2004). Um outro caso de queratite foi motivado por *Aeromonas sobria* num indivíduo de 58 anos, afetando apenas um olho. Apesar da sintomatologia e dos sinais da infecção, este indivíduo não apresentava qualquer indício de acidente traumático ou utilização de água ou contato com o solo inquinados por *Aeromonas*, o que não é habitual em infecções oculares por esta bactéria (Puri et al., 2003). Apesar de descritos alguns casos, os microrganismos *Aeromonas* são pouco comuns como agentes etiológicos deste tipo de infecção (Pinna et al., 2004).

As endoftalmites bacterianas endógenas são infecções graves mas pouco frequentes e podem ter dois tipos de origem, infecção proveniente por via sistêmica de outra área do organismo infetada, ou através de dispositivos médicos inquinados como os cateteres (Arévalo, Davis, Dodds & Zeballos, 2013). Os sinais e os sintomas incluem dor, visão turva, hipópio, manchas hemorrágicas e periflebitas na retina e ausência de reflexo vermelho. Um exemplo típico desta infecção devido a *Aeromonas* envolveu uma idosa de 73 anos de idade que tinha sido submetida a uma intervenção cirúrgica no intestino tendo-lhe sido colocado um cateter. Uns dias mais tarde surgiram diversas complicações como infecção da ferida no abdómen, artrite séptica num dos joelhos e ainda septicemia. Além disso, apresentou bilateralmente alteração da visão e dores com elevada pressão intra-ocular, além de ausência de reflexo vermelho. As amostras recolhidas do cateter, de sangue, do joelho e do humor vítreo dos dois olhos foram positivas para *Aeromonas hydrophila*. A possível origem da infecção pode estar relacionada com o uso do cateter (Khan et al., 2007).

Portanto, é essencial que na análise microbiológica das amostras se faça o despiste de *Aeromonas* spp. como microrganismos causadores de doenças oftálmicas, algumas das quais com complicações graves como a endoftalmite. Apesar de serem bactérias oculares raras, estas podem estar presentes.

### 5.5.3. Meningite

A meningite é um processo inflamatório cerebral frequentemente provocado por microrganismo como os vírus e as bactérias (Burnet, Huntley & Kemp, 2007). Embora pouco comum, *Aeromonas* têm a capacidade de inflamar as meninges independentemente da idade e estado imunitário do paciente (Ghenghesh et al., 2008; Pampín et al., 2012). Em alguns casos descritos, os pacientes apresentavam doenças subjacentes sobretudo ao nível hepático e sanguíneo. Esta patologia pode resultar de intervenções cirúrgicas e fratura do crânio, terapia alternativa com sanguessugas, entre outros (Pampín et al., 2012).

### 5.6. Septicemia

A septicemia tem sido mencionada na literatura desde sempre (cerca de dois milénios para trás). É uma patologia com elevada mortalidade e ocorre em qualquer ponto do globo (Martin, 2012). Vários agentes etiológicos podem ser responsáveis por este síndrome, dos quais as bactérias de Gram negativo como *Aeromonas* não são exceção. É importante salientar que a septicemia é a manifestação do organismo, através de mediadores inflamatórios, à infeção sistémica, como mecanismo de defesa do hospedeiro, ao passo que a bacteriemia é a aparecimento do microrganismo no sangue (Cohen, 2009). No entanto, estes dois termos são utilizados sem divergência pelos autores quando se referem a *Aeromonas*. Têm sido descritos casos de septicemia por *Aeromonas* desde aproximadamente 50 anos atrás. Esta patologia tem sido mais associada à população geronte e pode continuar a aumentar neste grupo atendendo ao envelhecimento da população (Lamy et al., 2009). As espécies que se destacam nesta infeção são *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* biovar *sobria* e *Aeromonas caviae*, mas outras três espécies também já foram relatadas, como *Aeromonas jandaei*, *Aeromonas veronii* biovar *veronii* e *Aeromonas schubertii* (Janda & Abbott, 2010). Um estudo retrospectivo realizado por Chuang e colaboradores (2011) no Taiwan, com uma população em estudo de 154 pacientes, *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas veronii* biovar *sobria* apresentavam maior percentagem de indivíduos com bacteriemia bem como maior taxa de mortalidade em comparação com *Aeromonas caviae*. Este tipo de infeção é bastante predominante em países com padrões atmosféricos favoráveis para o desenvolvimento de *Aeromonas* nomeadamente o tropical e subtropical, sendo a grande maioria contraídas na comunidade (Hochedez et al., 2010; Morinaga et al., 2011).

Relativamente aos sintomas associados à septicemia por *Aeromonas*, estes podem variar entre febre, calafrios, fezes diarreicas, dor no abdómen, icterícia, perda de apetite, astenia, e choque (Ghenghesh et al., 2008; Hochedez et al., 2010; Morinaga et al., 2011). Uma vez que a sintomatologia e a clínica da septicemia por *Aeromonas* é habitualmente idêntica às das outras bactérias, a única forma do clínico pressupor este microrganismo é através da anamnese do paciente, nomeadamente pela possível ligação ao meio aquático (Janda & Abbott, 2010).

O grupo da população mais suscetível à septicemia por *Aeromonas* é o dos imunodeprimidos que apresentam maior risco quando várias patologias estão associadas, sobretudo ao nível hepático, biliar e neoplásico (cancros malignos) (Parker & Shaw, 2011). Outras patologias podem estar associadas nomeadamente ao nível do pâncreas, rim, coração, sangue e ainda patologias metabólicas (Hochedez et al., 2010; Janda & Abbott, 2010).

Relativamente às neoplasias, os cancros líquidos com maior predisposição para septicemia por *Aeromonas* são a leucemia mieloblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda e o linfoma não-Hodgkin (Tsai et al., 2006). Devido a estas condições e ao facto de realizarem quimioterapia, estes pacientes têm a mucosa do trato gastrointestinal bastante afetada, tornando-se numa via acessível para a colonização de *Aeromonas*. Além disso o estado transitório de neutropénia resultante dos tratamentos antineoplásicos torna estes indivíduos mais suscetíveis. Ainda recentemente, uma criança de dois anos e meio com leucemia linfoblástica aguda evidenciou uma septicemia por *Aeromonas hydrophila*. A criança tinha uma alimentação à base de peixe e queijos, alimentos de onde são isoladas *Aeromonas*. Supõe-se que a bactéria tenha transitado do trato gastrointestinal para a via sanguínea provocando a bacteriemia. Posteriormente pele e tecidos moles da perna foram afetados, provocando fascíte e miosite necrosante, pois não apresentava lesão traumática (Papadakis et al., 2012). É necessário referir que indivíduos imunodeprimidos com consomem alimentos inquinados por *Aeromonas* têm maior risco de contrair septicemia (Morinaga et al., 2011).

Também têm sido descritos casos de grávidas que desenvolvem bacteriemia por *Aeromonas*. Na fronteira entre Mianmar e a Tailândia em 2011, num período de 5 meses, três grávidas de 12 semanas foram vítimas de bacteriemia por *Aeromonas*. No geral os sintomas mencionados foram a febre, dor no abdómen, as cefaleias, a hemorragia vaginal, os calafrios, os vômitos, as fezes diarreicas e o choque. As três

grávidas abortaram e uma acabou por falecer. Apenas uma das grávidas tinha possível fonte de infecção, o material utilizado na tentativa de aborto que muito provavelmente não estava esterilizado. A espécie *Aeromonas veronii* biovar *sobria* foi a espécie mais comum e uma das grávidas tinha infecção polimicrobiana (Turner et al., 2012). A gravidez pode ser considerada um estado imunodeprimido temporário (Hochedez et al., 2010). Também foi descrito um caso clínico de septicemia por *Aeromonas* num recém-nascido prematuro. O facto do parto espontâneo ter-se dado na casa de banho da habitação pode ter resultado na contaminação cutânea ou oral e consequentemente do trato gastrointestinal do recém-nascido dando origem a uma septicemia por *Aeromonas hydrophila*, sendo que também estava presente *Klebsiella oxytoca* (Chaudhari & Todd, 2009).

As septicemias por *Aeromonas* podem ser mono ou polimicrobianas sendo as bactérias mais comuns *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. (Ho et al., 2011; Hochedez et al., 2010). Os indivíduos onde é mais comum as infeções por múltiplas bactérias incluindo *Aeromonas* são os portadores de neoplasias e os indivíduos com cirrose (Ho et al., 2011). No estudo realizado por Hochedez e colaboradores (2010) as septicemias exclusivas por *Aeromonas* foram mais prevalentes, representando cerca de 62%.

Estas infeções podem ainda ser primárias ou secundárias. As septicemias secundárias podem resultar de vários tipos de infeção: meningite, trato urinário, peritonite bacteriana espontânea, fascíte necrosante, colecistite, colangite, abscessos cutâneos e pulmonares, pneumonias e queimaduras (Chuang et al., 2011; Coutinho, Morais, Gomes & Motta, 2013; Lai, Shiao, Lu & Ding, 2007; Nagata, Takeshima, Tomii & Imai, 2011). Também têm sido relatados casos de septicemia por *Aeromonas* resultantes da utilização de dispositivos médicos, como foram os casos de dois indivíduos de 48 e 77 anos que desenvolveram septicemia depois de submetidos à colocação de drenos biliares (Doudier, Imbert, Vitton, Kahn & La Scola, 2006).

As lesões traumáticas, independentemente da forma como foram contraídas, estão por vezes associadas a septicemia por *Aeromonas*, sem colocar em causa o estado imunitário do paciente (Papadakis et al., 2012). Também foram descritos casos de indivíduos imunocompetentes com septicemia resultante do sistema gastrointestinal, sem apresentarem qualquer sintoma de fezes diarreicas mas com amostras de sangue e fezes positivas para *Aeromonas caviae* (Dwivedi et al., 2008). Outra forma de infeção que pode progredir para septicemia é a utilização de sanguessugas como terapêutica

alternativa. Um indivíduo de 52 anos saudável foi sujeito a esta terapêutica e mesmo a fazer antibióticos como medida profilática desenvolveu septicemia por *Aeromonas* sem lesão na pele e tecidos moles no local (Levine, Frangos, Hanna, Colen & Levine, 2010).

É ainda importante referir que a percentagem de morte de indivíduos com septicemia por *Aeromonas* encontra-se entre os 24% e os 63% (Chuang et al., 2011). Assim, torna-se claro que os microrganismos do género *Aeromonas* spp. estão envolvidos em diversos tipos de infeção, podendo progredir para situações invasivas como a septicemia, consequência mais graves de todas as infeções.

## **6. Epidemiologia**

Estudos de infeções por *Aeromonas* no que toca à sua distribuição quantitativa na população humana são muito raros. Na sua grande maioria fazem menção a uma única infeção (Lamy et al., 2009). Aqui, serão abordados em primeiro lugar os estudos retrospectivos em determinados pontos do globo para alguns tipos de infeção, nomeadamente as gastrointestinais (as mais frequentes) e a septicemia/bacteriemia (a mais grave) e posteriormente serão referidos os estudos que englobam todas as infeções.

Como referido anteriormente as infeções gastrointestinais por *Aeromonas* são as mais comumente encontradas. Em Hong Kong, durante um período de 1 ano, foram selecionados os indivíduos com fezes diarreicas de causa infecciosa. Dos 130 selecionados, 6,9% tinham *Aeromonas* como agente etiológico (Chan & Ng, 2004). Num estudo idêntico realizado em Calcutá na Índia, 10,6% das 602 amostras de fezes diarreicas continham *Aeromonas* (Kannan et al., 2001). Ainda no continente asiático, mais concretamente no sudeste, a percentagem de população com *Aeromonas* nas fezes pode alcançar os 30% ao passo que na Europa é de 3% (Doudier et al., 2006). Num outro estudo realizado na cidade de Nasarawa na Nigéria com participantes voluntários, foi determinada a percentagem de população com *Aeromonas* nas fezes. Em 250 amostras, *Aeromonas* spp. estavam presentes em 1,6%, com maior predomínio nas crianças e gerontes (Kandakai-Olukemi, Mawak, Olukemi & Ojumah, 2007). Na população pediátrica em vários países do continente africano, asiático e América Latina é bastante comum a presença deste patogénico nas fezes, variando entre 1 a 88% em fezes diarreicas e 0 a 45% em fezes não diarreicas (Ghenghesh et al., 2008). No que toca às infeções gastrointestinais em viajantes, a taxa varia consoante os países de proveniência. Um estudo realizado por Vila e colaboradores (2003) detetou maior

predomínio de *Aeromonas* nas fezes diarreicas em turistas vindos da Ásia, com 2,3% (Índia, Irão e Tailândia), seguida da América Latina com 1,8% (Guatemala, México, Nicarágua e Paraguai) e por último África com 1,7% (Quênia, Mali/Burquina Fasso, Sara e Senegal). Na Tailândia foi realizado um estudo durante um período de cerca de 1 ano, e este determinou que os turistas europeus, neozelandeses/australianos e americanos são mais afetados por *Aeromonas* (14%) comparativamente às restantes bactérias (Chongsuvivatwong et al., 2009). A presença de *Aeromonas* nas fezes diarreicas da população dos países desenvolvidos pode alcançar os 7,4% ao passo que os indivíduos sem a presença de qualquer sintoma podem chegar aos 4% (Igbinosa et al., 2012).

Relativamente às espécies de *Aeromonas* encontradas nas fezes de seres humanos, estas variam consoante a área geográfica. Por exemplo, na Europa e nos Estados Unidos da América *Aeromonas caviae* é a mais frequente ao passo que na Tailândia, Brasil e Índia a mais comum é *Aeromonas hydrophila* (Pablos et al., 2011).

No que toca à septicemia/bacteriemia por *Aeromonas*, num estudo realizado no sul de Taiwan no período de 2008 a 2010, registaram-se 429 casos de bacteriemia, cerca de 76 casos/milhão de habitantes anualmente, valor 143 vezes maior que na Califórnia em 1988. O número de casos foi muito menor em países desenvolvidos como Inglaterra e País de Gales em 2004, com 1,5 casos/milhão de habitantes (Janda & Abbott, 2010). No Japão, num estudo retrospectivo de 1994 a 2010 apenas foram registados 36 casos de bacteriemia por *Aeromonas*.

Quanto às espécies isoladas na bacteriemia, em países como Estados Unidos da América, Taiwan, Hong Kong, Espanha e Austrália *Aeromonas hydrophila* é a mais comum ao contrário do Japão em que *Aeromonas caviae* tem maior predomínio (Kimura, Araoka & Yoneyama, 2013).

Olhando agora para as infeções num contexto geral, o primeiro estudo epidemiológico sobre *Aeromonas* spp. foi efetuado na Califórnia em 1988. Neste estudo foram registados 10,6 casos/milhão de habitantes durante 1 ano. A infeção com maior predomínio foi a gastrointestinal com 81% seguida pelas infeções de pele e tecidos moles com 9% e a bacteriemia com 5% (King, Werner & Kizer, 1992). Num estudo mais recente efetuado em França, de maio a outubro de 2006, em 70 unidades hospitalares, foram incluídos 78 indivíduos com infeções por *Aeromonas*. As infeções mais prevalentes foram as de pele e tecidos moles com 43,6%, seguida da bacteriemia com 25,6% dos quais 35% acabaram por falecer. Nas infeções gastrointestinais foram



registados 19,2%, as infeções respiratórias com 6,4% seguidas de 2,6% nas infeções intra-abdominais, 1,3% nas infeções oculares e 1,3% nas infeções do trato urinário (Lamy et al., 2009).

É necessário referir que diferentes técnicas são utilizadas na deteção das espécies, além disso várias outras condições estão inerentes aos diferentes resultados obtidos nas diversas áreas geográficas como os padrões climáticos (supõe-se que os países de clima temperado tenham uma menor contato com *Aeromonas* no meio ambiente e produtos alimentares comparativamente ao tropical e subtropical), o tipo de alimentação, o acesso a cuidados médicos e saneamento básico podendo inferir nestes resultados (Hochedez et al., 2010; Igbinsa et al., 2012; Kimura et al., 2013; Pablos et al., 2011).

## **7. Métodos de Deteção e Identificação**

A deteção e identificação do agente etiológico da infeção são de extrema importância havendo necessidade de o fazer num curto espaço de tempo, de forma a permitir aos clínicos a administração de uma terapêutica antibiótica adequada ao paciente, reduzindo assim a utilização de antibióticos desnecessários (administrados empiricamente), bem como desenvolvimento de resistências aos mesmos (Leekha, Terrell & Edson, 2011; Wolk & Dunne, 2011). Desta forma é importante conhecer os métodos laboratoriais que podem estar disponíveis para a deteção e identificação do género e se possível das espécies de *Aeromonas*.

### **7.1. Métodos Convencionais**

Como patogénico causador de infeções humanas, a deteção e identificação laboratorial de *Aeromonas* spp. em amostras clínicas tem a sua importância no diagnóstico e na identificação de surtos. Inicialmente é necessário recolher as amostras para meios de transporte adequados, como o meio de Amies, o meio Stuart (modificado), a solução salina tamponada com glicerol e o mais indicado, o meio de Cary-Blair. Este último meio contém agar, fosfato dissódico, tioglicolato de sódio, cloreto de sódio e cloreto de cálcio, a pH de  $8,4 \pm 0,2$  a 25°C sendo a gama de temperaturas de incubação mais apropriada entre os 25 e os 37°C (Koehler & Ashdown, 1993; Oxoid Ltd, 2001; Martin-Carnahan & Joseph, 2005). A. O passo seguinte passa por isolar as amostras em meios de cultura, pois os meios de enriquecimento (água

peptonada alcalina e caldo triptona soja com ampicilina) são um assunto ainda discutível em relação às amostras clínicas sendo mais aconselhados em amostras de alimentos e ambientais (Martin-Carnahan & Joseph, 2005).

As bactérias do género *Aeromonas* são microrganismos que crescem sem dificuldade na maioria dos meios de cultura, tanto em meios para amostras de locais anatómicos isentos de microrganismos como em meios para bactérias entéricas, sendo apenas afetadas em meio de tiosulfato-citrato-sais biliares-sacarose (TCBS). Estas bactérias são comumente isoladas em meio MacConkey, meio lisina-xilose-dextrose (LXD), meio entérico Hektoen, meio Luria Bertani, meio citrato-desoxicolato (CD) e em meio *Shigella-Salmonella* (SS) (Janda & Abbott, 2010; Parker & Shaw, 2011). Em meio de MacConkey a aparência das colónias varia consoante a estirpe de *Aeromonas* em análise, desde vermelho brilhante com precipitado em volta da colónia, a rosa claro ou incolor dependendo da fermentação da lactose. Devido a esta situação as colónias incolores podem ser facilmente confundidas com as colónias de *Salmonella* ou *Shigella* (Farmer III et al., 2006). O mesmo acontece com o meio SS, em estirpes de *Aeromonas* lactose-negativas. Mas caso contrário, se as estirpes fermentarem a lactose podem iludir o microbiologista como sendo bactérias da flora normal, levando-o a ignorar tal resultado (Aguilera-Arreola, Portillo-Muñoz, Rodríguez-Martínez & Castro-Escarpulli, 2012). Em meio de Hektoen, as estirpes de *Aeromonas* que fermentam a lactose também prejudicam a sua deteção (González et al., 2010).

O meio agar de sangue com ampicilina (ASA) tem sido usado como meio seletivo para *Aeromonas*, uma vez que a grande parte das espécies deste género provenientes de amostras clínicas são  $\beta$ -hemolíticas (Andělová, Porazilová & Krejčí, 2006). Este meio é vantajoso numa primeira fase de recuperação da bactéria e por permitir diretamente o teste da oxidase (Aguilera-Arreola et al., 2012). Contudo, o facto de *Aeromonas trota* e por vezes algumas estirpes de *Aeromonas caviae* serem sensíveis à ampicilina, podendo ambas estarem presentes em infeções humanas, a utilização deste composto seletivo é questionável (Awan, Maqbool, Bari & Krovacek, 2009). Além disso, o aparecimento de resistências a este antibiótico por outras bactérias tem colocado algumas reticências na utilidade deste meio em análises rotineiras (Andělová et al., 2006).

Outro meio que também tem sido utilizado no isolamento de *Aeromonas* é o meio seletivo novobiocina-irgasan-cefsulodina (NIC) comumente usado para deteção da *Yersinia* spp. (González et al., 2010). Devido ao facto das colónias de *Aeromonas*, de

*Yersinia* e de *Citrobacter* serem idênticas dificulta a detecção e além disso o teste da oxidase por vezes resulta em falsos-negativos, não podendo ser realizado no próprio meio (Aguilera-Arreola et al., 2012; Andělová et al., 2006). No entanto, este meio continua a ser utilizado e como tal recentemente foi demonstrado que a inoculação em meio de Muller Hinton após teste de oxidase em colónias de NIC manitol positivas aumenta a sensibilidade de *Aeromonas* isoladas de amostras fecais em comparação com o meio de Kligler (González et al., 2010).

O agar *Aeromonas* como o próprio nome indica, é um meio desenvolvido para detecção de *Aeromonas* spp. em vários tipos de amostras, incluindo as clínicas. Como meio seletivo que é, é dotado de compostos como o verde brilhante e o irgasan. Além disso não impede o crescimento de *Aeromonas* suscetíveis à ampicilina (Lab M, 2005). O microrganismo *Pseudomonas* é a bactéria que apresenta colónias idênticas a *Aeromonas* neste meio, mas podem ser facilmente distinguíveis pelo metabolismo fermentativo e teste da oxidase que pode inclusive ser realizado diretamente no meio (Andělová et al., 2006; Lab M, 2005). O agar *Aeromonas* num estudo comparativo de meios de cultura (NIC, CD e MacConkey) com amostras fecais foi o que apresentou maior eficácia na detecção de *Aeromonas*, podendo ser utilizado em laboratórios para análises de rotina (Andělová et al., 2006).

No Brasil, tem estado a ser desenvolvido um meio para detecção de *Aeromonas* spp. e *Plesiomonas shigelloides* e outros enteropatogénicos como *Escherichia coli*, *Shigella* spp. e *Salmonella* spp.. O meio seletivo, designado agar UNISC faz a distinção entre bactérias fermentadoras e não fermentadoras de xilose. As bactérias *Aeromonas* e *Plesiomonas shigelloides*, bem como *Shigella* são microrganismos não fermentadores de xilose apresentando colónias azuis, sendo os dois primeiros facilmente distinguíveis da *Shigella* pelo teste da oxidase, no qual são positivos. Este meio necessita ainda de ensaios de validação, havendo grande possibilidade de suprir a utilização dos atuais meios de coprocultura, nomeadamente o meio de MacConkey e o meio SS (Rocha, Scheid & Alves, 2008).

Atendendo à necessidade de ter um meio económico, rápido, prático e efetivo para a detecção e identificação de *Aeromonas* em análises de rotina foi realizado um estudo de avaliação do meio cromogénico agar CromoCen® AGN em vários tipos de amostras, incluindo fezes diarreicas. A detecção de *Aeromonas* neste meio está relacionada com a atividade proteolítica da bactéria surgindo um halo transparente na colónia. Os microrganismos *Pseudomonas* também detêm tal atividade mas distinguem-

se de *Aeromonas* pela presença da glucuronidase e galactosidade nesta última. Em termos gerais, este meio apresentou elevada sensibilidade e especificidade sobre os diferentes géneros de Gram negativo testados, identificados por diferentes cores. É necessário referir que ocorreu variação da cor nas colónias de *Aeromonas* (desde verde claro, a salmão ou violeta) bem como no desenvolvimento do halo nas temperaturas de incubação, 28°C e 37°C (24 a 48 horas), sendo aconselhado a utilização de duas temperaturas no ensaio. Assim, o meio CromoCen® AGN é útil na deteção e identificação de *Aeromonas* ao nível do género, cumprindo com os vários requisitos referidos acima (económico, rápido, prático e efetivo) (Aguilera-Arreola et al., 2012).

Outros meios de deteção incluem, o agar verde brilhante-sais biliares para *Aeromonas* e *Plesiomonas*, meio dextrina-fucsina-sulfito, meio de Rimler-Shotts (para amostras de água e animais), agar ADNase com ampicilina e azul toluidina, MacConkey com ampicilina e Tween-80, agar pril-xilose-ampicilina e agar amido-ampicilina (Farmer III et al., 2006). A temperatura de incubação das amostras clínicas é usualmente entre os 35 e os 37°C mas pode variar consoante meio utilizado (Perales, 2003).

Um dos grandes problemas na identificação de *Aeromonas* incide sobre a grande quantidade de espécies descritas e o facto de não haver determinadas características fenotípicas discriminatórias úteis (Edberg et al., 2007). Os testes bioquímicos para identificação do género e espécies de *Aeromonas* não são de fácil determinação mas são a forma mais comumente usada para análise laboratorial de amostras clínicas (Lamy et al., 2010). Como tal, o reconhecimento do género *Aeromonas* de entre os géneros *Vibrio* e *Plesiomonas* pode ser conseguido por intermédio de vários testes (Tabela 4).

Tabela 4 - Identificação do género *Aeromonas*<sup>12</sup>. Adaptado de (Ghenghesh et al., 2008; Janda & Abbott, 2010; Martin-Carnahan & Joseph, 2005).

Caraterísticas	<i>Aeromonas</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Vibrio</i>	
			<i>Vibrio cholerae</i> e <i>Vibrio mimicus</i>	Outros vibrios
<b>Agente vibriostático O/129</b>	Resistente	Resistente/Sensível	Sensível <sup>13</sup>	Particularmente sensível
<b>Crescimento a 0% NaCl<sup>14</sup></b>	Cresce	Cresce	Cresce	Não cresce
<b>Crescimento em TCBS</b>	Não cresce	Não cresce	Colónia amarela/colónia verde	Colónia amarela ou verde
<b>Crescimento a 6% de NaCl</b>	Não cresce	Não cresce		Cresce
<b>Liquefação da gelose</b>	+	-		+
<b>Ornitina descarboxilase</b>	-	+		+
<b>Lisina descarboxilase</b>	+	+		+
<b>Arginina dihidrolase</b>	+	+		-
<b>Fermentação do myo-inositol</b>	-	+		-

No entanto há exceções, *Aeromonas veronii* biovar *veronii* tem um perfil (referente às caraterísticas da tabela 4) idêntico a algumas estirpes de *Vibrio cholerae* O1 e O139 resistentes ao agente vibriostático O/139, sendo necessário o teste da esculina ou salicina (positivos) e formação de gás através da glucose por *Aeromonas veronii* biovar *veronii* para haver distinção. O mesmo acontece entre *Aeromonas caviae* e determinadas estirpes de *Vibrio fluvialis* que apresentam perfis semelhantes (referente às caraterísticas da tabela 4), recorrendo-se à metabolização da celobiose por *Aeromonas caviae* para diferenciar os géneros (Janda & Abbott, 2010).

Os sistemas comerciais também têm sido utilizados para identificar *Aeromonas*, contudo tem-se verificado alguns erros de identificação relacionados com o género *Vibrio*. Em relação à espécie, a situação fica ainda mais complicada (Soler et al., 2003). Esta conjuntura é particularmente grave porque uma identificação errada, especialmente ao nível do género pode ter consequências graves para o paciente, uma vez a terapêutica

<sup>12</sup> Símbolos e abreviaturas: +, positivo; -, negativo; NaCl, cloreto de sódio.

<sup>13</sup> Geralmente as estirpes *Vibrio cholerae* serogrupo O1 e todas as estirpes do serogrupo O139 são resistentes.

<sup>14</sup> Caldo nutritivo Difco.

antibiótica adequada é preponderante (Park et al., 2003). Recentemente foi realizado um estudo comparativo entre seis sistemas comerciais de identificação em relação a *Aeromonas* e o que apresentou melhores resultados em termo globais foi o API-32GN, cerca de 98,9% ao nível do género e 91,9% em relação às espécies mas com a necessidade de realizar testes adicionais. O sistema de microplaca Omnilog GN2 apresentou 100% de identificação em relação ao género. Em contraste, este sistema de identificação apresentou baixa precisão ao nível da espécie, juntamente com o API-20E, o Vitek2, o Phoenix 100 ID/AST e o Neg Fermenter Combo 47/Micro Scan. Assim, os sistemas comerciais de uma forma geral necessitam de ser melhorados para a identificação de *Aeromonas*, sobretudo em relação aos algoritmos, aos bancos de informação e especialmente na distinção do género *Vibrio* (Lamy et al., 2010).

Depois de detetar e isolar *Aeromonas* em meios de cultura apropriados é útil identificar as espécies envolvidas. Como tal, é importante realçar de entre as várias *Aeromonas* spp. quais as mais implicadas em infeções humanas: *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas veronii* biovar *sobria* em maior destaque, seguidas de *Aeromonas veronii* biovar *veronii*, *Aeromonas jandaei* e *Aeromonas schubertii* (Janda & Abbott, 1998). As bactérias *Aeromonas allosaccharophila*, *Aeromonas media* e *Aeromonas trota* embora já tenham sido isoladas de amostras clínicas, as suas presenças em infeções humanas são raras (Lamy et al., 2010). Alguns dos vários testes bioquímicos para identificação destas diferentes espécies encontram-se descritos no anexo II.

Dependendo do perfil determinado num conjunto de testes bioquímicos, *Aeromonas* podem ser distinguidas em 3 grupos de espécies, designadamente o complexo *Aeromonas hydrophila* (*Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas bestiarum* e *Aeromonas salmonicida*), o complexo *Aeromonas caviae* (*Aeromonas caviae*, *Aeromonas media* e *Aeromonas eucrenophila*) e o complexo *Aeromonas sobria* (*Aeromonas veronii* biogrupo *sobria*, *Aeromonas jandaei*, *Aeromonas schubertii*, e *Aeromonas trota*). As bactérias pertencentes a cada complexo têm por base reações bioquímicas para se diferenciarem do restante grupo (Abbott et al., 2003). Através da análise do anexo II pode-se verificar que as espécies do complexo *Aeromonas hydrophila* podem ser distinguidas pela fermentação do D-sorbitol e pela utilização do ácido uricânico. O complexo *Aeromonas caviae* pode ser diferenciado a partir do teste de fermentação da sacarose e utilização do ácido uricânico. Em relação ao complexo *Aeromonas sobria*, os testes mais indicados são a fermentação da sacarose e arabinose e

a produção de gás a partir da D-glucose. Para o caso de ser necessário discriminar *Aeromonas veronii* biovar *veronii* de *Aeromonas hydrophila* (resultados bioquímicos no anexo II muitos similares), os testes que podem ser aplicados são a fermentação da arabinose e a reação da arginina descarboxilase.

Outros métodos que podem ser aplicados na identificação de *Aeromonas* são produção de sulfureto de hidrogénio a partir da gelose-cisteína-tiosulfato, presença da enzima pirazinamidase, utilização do DL-lactato e da elastase, formação de ácido a partir da D-ramnose, entre outros (Martin-Carnahan & Joseph, 2005).

Dados recentes sugerem que os testes bioquímicos não são os mais indicados para detetar *Aeromonas* ao nível das espécies (Su, Lin & Chao, 2013) porque além de ser necessário uma grande quantidade de testes, a demora nos resultados (aproximadamente 72 horas), os elevados custos económicos e as metodologias envolvidas tornam-o inviável em análises laboratoriais de rotina. O mais apropriado seria identificar o complexo, uma vez que a terapêutica e as consequências prováveis da infeção seriam idênticas entre espécies do mesmo complexo (Janda & Abbott, 1998). Abbott e colaboradores (2003) fizeram uma análise aos resultados de estudos anteriormente realizados e juntamente com resultados do seu ensaio, concluíram que das 62 caraterísticas bioquímicas testadas em cerca de 400 estirpes de *Aeromonas*, apenas 4 caraterísticas demonstram resultados idênticos. Apesar de em vários estudos os testes bioquímicos serem os mesmos, não existe um procedimento nem caraterísticas de reagentes/meios padrão, e por este motivo pode haver variações de resultados (Abbott et al., 2003; Beaz-Hidalgo et al., 2010). Além disso, a maioria dos algoritmos de identificação de *Aeromonas* estão desatualizados em relação às reclassificações taxonómicas e espécies que foram posteriormente descritas (Edberg et al., 2007).

Tendo em conta o descrito, os métodos convencionais apresentam muitas limitações na deteção e identificação de espécies/género *Aeromonas*. Além de morosos, é necessário um grande número de testes bioquímicos para obter um resultado fidedigno.

## 7.2. Métodos Moleculares

Como referido na secção “Taxonomia e Classificação” vários métodos moleculares têm sido aplicados como meio de identificação de espécies *Aeromonas*. Desde a hibridização ADN-ADN ao MLST de genes *Housekeeping*, muitos métodos foram aplicados.

Os métodos moleculares são particularmente importantes porque permitem identificar as espécies com fenótipos bastante idênticos. Contudo, a maioria das técnicas de sequenciação e filogenéticas não são as mais apropriadas em laboratórios como técnicas de diagnóstico porque são muito onerosas (Benagli et al., 2012).

A técnica *loop-mediated isothermal amplification* (LAMP) é uma metodologia recente de amplificação de ácidos nucleicos a uma temperatura constante (Notomi et al., 2000). A bactéria *Aeromonas caviae* (proveniente de amostras clínicas) foi testada nesta técnica que se baseia na amplificação de uma determinada região, neste caso a região espaçadora intergénica 16S-23S (apresenta diferentes sequências entre espécies) a uma temperatura relativamente baixa (60-65°C) (Notomi et al., 2000; Wei, Zheng, Zhang, Qu & Huang, 2008). Com base nessa região de *Aeromonas caviae* foram desenhados quatro iniciadores (*primers*) que se ligavam a seis locais diferentes da região alvo, promovendo desta forma o aumento da especificidade da reação. A polimerase *Bst* foi responsável pela amplificação a uma temperatura de 62°C durante cerca de uma hora sendo o produto posteriormente analisado por eletroforese em gel de agarose. Os resultados foram satisfatórios na medida em que todas *Aeromonas caviae* foram detetadas em oposição a não *Aeromonas caviae*. Esta técnica é sensível e apresenta resultados em menor tempo (cerca de 1 hora) comparativamente aos métodos convencionais e PCR (cerca de 3 horas), podendo ser útil em laboratórios como método de diagnóstico (Wei et al., 2008).

Um outro método ainda não referido consiste na identificação de *Aeromonas* por sondas de ADN. Duas sondas foram desenvolvidas, uma deteta a ATGC e a outra uma proteína da membrana externa. Ambas demonstraram capacidade de identificar *Aeromonas* sem ocorrer hibridização das sondas com bactérias de outros géneros (especialmente o género *Vibrio*). Esta técnica pode demorar sensivelmente 36 horas com resultados precisos em oposição às 72 horas dos testes convencionais, podendo ser uma técnica útil como diagnóstico de infeções por bactérias do género *Aeromonas*. (Chacón, Castro-Escarpulli, Soler, Guarro & Figueras, 2002; Khushiramani, Girisha, Karunasagar & Karunasagar, 2009). Também têm sido construídas sondas de ADN que se limitam a identificar uma única espécie, nomeadamente *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas trota*, *Aeromonas schubertii* e *Aeromonas jandaei*. Apesar deste desenvolvimento, ainda nenhuma sonda está acessível (Parker & Shaw, 2011).

Outra alternativa passa pela aplicação de um PCR-Duplex para espécies de *Aeromonas*, que se fundamenta na amplificação dos genes que codificam para a ATGC



e 16S rARN. Este método foi testado em espécies de *Aeromonas* e *Vibrio* mais implicadas em infeções humanas (estirpes de referência e amostras de fezes diarreicas). Os resultados foram favoráveis para *Aeromonas* uma vez que os dois genes testados foram amplificados. Contudo alguns vibrios (*Vibrio cholerae* não-O1 e não-O139, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio mimicus* e *Vibrio parahaemolyticus*) apresentaram amplificação do gene 16S rARN. Ainda assim, este método pode representar uma opção viável aos testes fenotípicos na deteção e distinção entre *Aeromonas* e *Vibrio*. São necessários mais testes para validar esta técnica que pode ser útil como método de diagnóstico em laboratórios com análises de rotina (Mendes-Marques, Hofer & Leal, 2013).

Um dos métodos mais recentes para a identificação de *Aeromonas* é o *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight* – espetrometria de massa (MALDI-TOF) (Benagli et al., 2012). A base do MALDI-TOF está na formação de espetros de massa característicos a partir dos fragmentos de moléculas (proteínas) desagregadas da célula bacteriana. O espetro resultante é comparado com os espetros contidos no banco de dados constantemente atualizado (Biswas & Rolain, 2013). Um estudo realizado com amostras clínicas e ambientais de *Aeromonas* demonstrou que o MALDI-TOF apresenta uma discriminação em relação ao género de 100%. No que toca às amostras clínicas, a precisão em relação à espécie foi de 90%, indicando que pode ser uma metodologia promitente ao nível da identificação de espécies bacterianas (Lamy, Kodjo, Laurent & Group the colBVH Study, 2011). É um método económico, exato, prático e com resultados num curto espaço de tempo (em minutos), indicado para laboratórios de análises microbiológicas de rotina (Biswas & Rolain, 2013).

Desta forma, as metodologias moleculares apresentam características mais favoráveis comparativamente aos métodos convencionais, nomeadamente a nível de especificidade, sensibilidade, rapidez de execução e de resultados. Estes podem ter um papel preponderante a nível clínico sobretudo nos ensaios de deteção e identificação de espécies/género *Aeromonas*.

## 8. Tratamento

### 8.1. Antibioterapia

#### 8.1.1. Introdução aos Antibióticos

Os antibióticos são um grupo farmacológico fundamental no tratamento das infecções (Coates & Hu, 2007). Têm como objetivo causar a morte da célula bacteriana ou inibir a multiplicação da mesma. Os diferentes antibióticos estão divididos em classes consoante o local de ação na célula bacteriana, com maior destaque para os antibióticos que inibem a síntese da parede celular, antibióticos que alteram a síntese dos ácidos nucleicos, antibióticos que inibem a síntese proteica por ação sobre os ribossomas e os que interferem com o metabolismo bacteriano (Figura 6) (Kohanski, Dwyer & Collins, 2010).

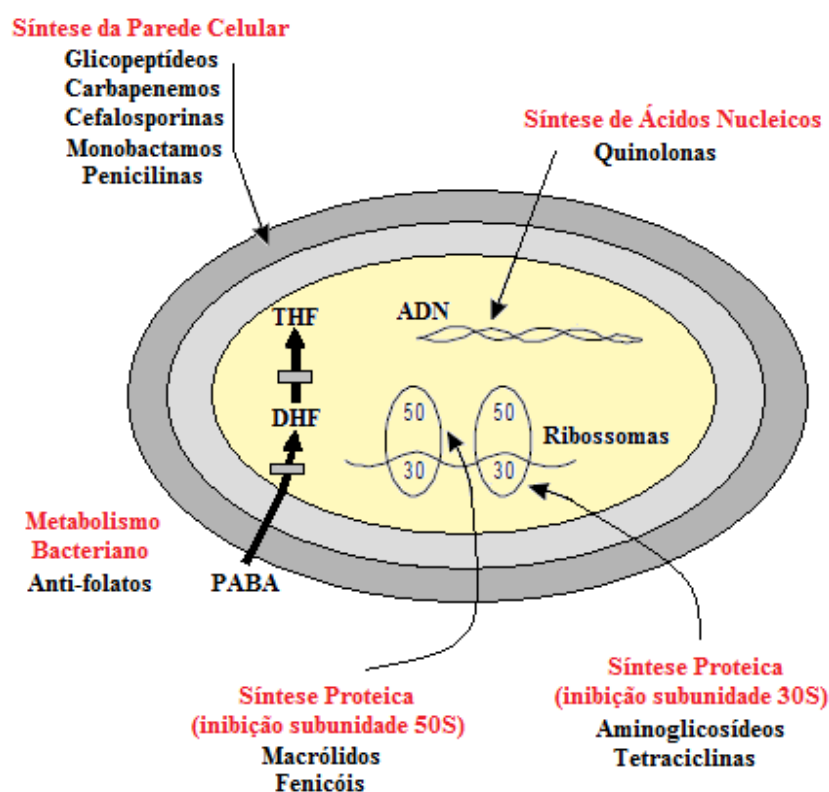


Figura 6 - Locais de ação de várias classes antibióticas. Abreviaturas: PABA, ácido paraminobenzóico; DHF, di-hidrofolato; THF, tetra-hidrofolato. Adaptado de (Jackson, Reyes, & Cordiés, 1998).

No entanto, é cada vez mais evidente o aparecimento de resistências e consequente diminuição da eficácia no tratamento. Por este motivo é necessário o desenvolvimento de novos antibióticos (Coates & Hu, 2007).

### 8.1.2. Antibioterapia nas infeções por *Aeromonas* spp.

Usualmente as infeções por *Aeromonas* spp. não carecem de antibioterapia, contudo em determinadas situações é inevitável a sua utilização, quer para impedir a evolução bem como a permanência da enfermidade. Esta conjuntura é normalmente requerida na população pediátrica e geronte e em indivíduos com o sistema imunitário debilitado (Obi et al., 2007). Em relação às infeções no sistema gastrointestinal, mais concretamente a supressão das fezes diarreicas, a utilização de antibióticos é ainda incerta uma vez que estas são na sua grande maioria autolimitantes (Graevenitz, 2007; Quiroga & Vergara, 2011). Na Tabela 5 está descrito um resumo das terapêuticas utilizadas nas infeções gastrointestinais por *Aeromonas* spp. em diversos estudos disponíveis na literatura.

Tabela 5 - Antibioterapia utilizada em infeções gastrointestinais por *Aeromonas* spp..

Caso Clínico	Espécie Isolada	Sensibilidade Antibiótica	Antibiótico utilizado	Referência
9 Indivíduos com fezes diarreicas em Hong Kong (apenas 1 fez terapêutica antibiótica)	<i>Aeromonas caviae</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Aeromonas veronii</i>	Ciprofloxacina Ceforaxima Cloranfenicol Trimetoprim-Sulfametoxazol	Ciprofloxacina	(Chan & Ng, 2004)
18 Indivíduos com diarreia do viajante (apenas 9 indivíduos fizeram terapêutica antibiótica – monoterapia)	<i>Aeromonas veronii</i> <i>biovar sobria</i> <i>Aeromonas caviae</i> <i>Aeromonas jandaei</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	Cefotaxima Ciprofloxacina Ácido Nalidíxico	Norfloxacina (1 indivíduo) Ciprofloxacina (6 indivíduos) Trimetoprim-Sulfametoxazol (2 indivíduos)	(Vila et al., 2003)
2 Indivíduos (chineses, idosos) com fezes diarreicas	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Ceftriaxona Trimetoprim-Sulfametoxazol	Ceftriaxona	(Sule, Tai, Boey, & Tay, 2008)
Indivíduo com Síndrome urémico hemolítico em Espanha	<i>Aeromonas veronii</i> <i>biovar sobria</i>	Ciprofloxacina Piperacilina	Ciprofloxacina	(Figueras et al., 2007)
Indivíduo (criança de 2 anos) com colite segmentar	<i>Aeromonas veronii</i> <i>biovar sobria</i>	Gentamicina Cefuroxima Ceftriaxona	Ceftriaxona	(Lin, 2006)

Através da análise da tabela 5, os antibióticos mais apropriados na terapêutica gastrointestinal são o trimetoprim-sulfametoxazol, as fluoroquinolonas e as cefalosporinas de 3ª geração.

Relativamente às infeções de pele e tecidos moles, a terapêutica antibiótica é mais complexa devido à similaridade com as infeções por *Staphylococcus* spp. e

*Streptococcus* spp., pois estas últimas são tratadas empiricamente com penicilina ou amoxicilina-ácido clavulânico, não produzindo qualquer efeito sobre *Aeromonas* (Lamy et al., 2009; Vally et al., 2004). Como tal, na Austrália, antes dos resultados microbiológicos estarem concluídos, a terapêutica indicada inclui a cefotaxima, ceftriaxona ou a ciprofloxacina (Vally et al., 2004). No que toca às lesões que ocorreram devido ao tsunami que assolou a Tailândia em 2004, no qual *Aeromonas* spp. estiveram maioritariamente presentes, as 3 principais terapêuticas antibióticas utilizadas foram a amoxicilina-ácido clavulânico (40,5%), a cefotaxima ou ceftriaxona com gentamicina (19,1%) e ainda a cloxacilina com gentamicina (11,4%). É importante referir que a maioria das infeções eram de cariz polimicrobiano, sobretudo bactérias de Gram negativo como *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, e em menor número as de Gram positivo como *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus*. Os microrganismos do género *Aeromonas* spp. bem como *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* demonstraram sensibilidade à amicacina, cefepima, cefotaxima, ceftazidima, ciprofloxacina, gentamicina, imipenem e trimetoprim-sulfametoxazol (Hiransuthikul et al., 2005).

Nas infeções por mordidas de animais, também polimicrobianas, tem-se optado pela terapêutica com ciprofloxacina ou piperacilina-tazobactam com amoxicilina-ácido clavulânico e ciprofloxacina (Easow & Tuladhar, 2007; Kunitomo et al., 2004). Nestas infeções, nomeadamente as causadas por felinos, está referido que a determinação da flora bacteriana e a avaliação continua da sensibilidade antibiótica são poderosas ferramentas para a implementação de uma terapêutica empírica (Easow & Tuladhar, 2007).

Em infeções por queimaduras (com mais 35% da superfície corporal queimada) por *Aeromonas hydrophila* e outro patogénico associado, as terapêuticas administradas em diversos casos variaram entre meropenem com vancomicina, numa outra situação clínica mais complicada vancomicina com ciprofloxacina, trimetoprim-sulfametoxazol e meropenem; num outro caso foi instaurada vancomicina com amicacina e cefepima, e no último ciprofloxacina com vancomicina e piperacilina-tazobactam (Chim & Song, 2007; Ribeiro et al., 2010).

Regra geral, as infeções de pele e tecidos moles por *Aeromonas* são tratadas empiricamente com fluoroquinolona e/ou trimetoprim-sulfametoxazol. Contudo estas estão muitas vezes contaminadas por mais patogénicos (*Staphylococcus* spp., *Enterococcus*, coliformes e anaeróbios), podendo ser incluído outro antibiótico de

forma a abranger as restantes bactérias envolvidas, como as cefalosporinas de 3ª geração (Chao et al., 2013; Ribeiro et al., 2010).

As infeções intra-abdominais apresentam uma terapêutica empírica complicada, isto porque a maioria dos antimicrobianos utilizados, ampicilina-sulbactam ou a piperacilina podem não ter qualquer ação sobre *Aeromonas* spp., e para além disso neste tipo de infeção estão presentes vários patogénicos (Clark & Chenoweth, 2003). Nas colangites, por exemplo, com infeção polimicrobiana com a presença de *Aeromonas caviae* foi aplicada a terapêutica de cefotaxima com amicacina (Randive & Mathur, 2012). Em outros casos de colangite polimicrobiana mas com *Aeromonas hydrophila*, as terapêuticas variaram entre a piperacilina-tazobactam e a ofloxacina com gentamicina (Clark & Chenoweth, 2003). No que refere às apendicites, por *Aeromonas sobria* associada a outra bactéria, a terapêutica imposta no caso clínico foi o ertapenem (Tsai et al., 2013). Nos abscessos pancreáticos (apenas um caso descrito) por *Aeromonas hydrophila*, o tratamento mais apropriado envolve uma quinolona ou um carbapenemo podendo ser associado um aminoglicosídeo (De Gascun et al., 2007). Nas peritonites bacterianas espontâneas por *Aeromonas* spp., o antibiótico mais indicado é a cefotaxima (Choi et al., 2008).

Relativamente às infeções respiratórias por *Aeromonas* spp., como as pneumonias (algumas das quais polimicrobianas), a terapêutica antimicrobiana tem consistido em cefalosporinas de 3ª ou 4ª geração ou fluoroquinolonas (Chao et al., 2013). É importante referir que nas pneumonias por aspiração de água, a terapêutica deve ter em conta as bactérias presentes nesta (Tadié et al., 2012). No caso clínico de traqueobronquite por *Aeromonas veronii* biovar *sobria* o tratamento incluiu apenas a cefepima (Bossi-Küpfer et al., 2007) enquanto o caso de epiglotite por *Aeromonas hydrophila* implicou a utilização de ceftriaxona (Apisarnthanarak et al., 2008). Os autores indicam que em casos de infeções com elevada gravidade por *Aeromonas hydrophila* (como o da epiglotite) é aconselhável recorrer as cefalosporinas de 3ª geração (Apisarnthanarak et al., 2008). Os empiemas por *Aeromonas* spp. são sobretudo tratados com cefotaxima ao passo que nos abscessos pulmonares por *Aeromonas hydrophila* a terapêutica inclui maioritariamente a cefuroxima, mas também pode conter a ciprofloxacina (Chen et al., 2006; Pérez et al., 2005).

No que respeita às infeções do trato urinário, a terapêutica para a extinção de *Aeromonas* spp. engloba várias classes antibióticas já mencionadas, nomeadamente as fluoroquinolonas (como a ciprofloxacina), as cefalosporinas de 3ª geração ou os

aminoglicosídeos (Al-Benwan et al., 2007; Chao et al., 2012). Também tem sido utilizado o trimetoprim-sulfametoxazol e num grupo mais suscetível da população, uma grávida de 12 semanas foi-lhe administrada cefuroxima (Hua et al., 2004; Ragunathan et al., 2012). No caso clínico em que foi diagnosticado prostatite e septicemia por *Aeromonas*, o indivíduo recuperou favoravelmente com ofloxacina. Em caso de infeção por prostatite as fluoroquinolonas são a classe antibiótica de eleição porque além de as bactérias do género *Aeromonas* serem sensíveis, a farmacocinética é excelente nesta terapêutica (Huang et al., 2007).

Nos dois casos de infeção ocular por *Aeromonas*, em que foi diagnosticado queratite, as terapêuticas antibióticas variaram entre a tobramicina tópica fortificada com ciprofloxacina e gentamicina fortificada com cefuroxima (Pinna et al., 2004; Puri et al., 2003). Assim, neste tipo de infeção a antibioterapia mais indicada inclui os aminoglicosídeos e as fluoroquinolonas (Pinna et al., 2004). Já nas endoftalmites bacterianas endógenas, o caso clínico abordado apenas referiu que *Aeromonas hydrophila* era suscetível à gentamicina e ciprofloxacina (Khan et al., 2007), o que induz que as duas classes antibióticas destes dois fármacos sejam as mais apropriadas para as infeções oculares por *Aeromonas* spp..

Em relação à meningite, o caso clínico abordado (cirurgia ao crânio para remoção de um tumor) consistia de uma infeção por *Aeromonas veronii* biovar *sobria* após terapia com sanguessugas. A terapêutica da meningite incluiu ceftriaxona e posteriormente cefepima com tobramicina. Não é de mais referir que a terapêutica antibiótica preventiva no tratamento com sanguessugas é indispensável (Ouderkirk, Bekhor, Turett & Murali, 2004).

No que toca à septicemia por *Aeromonas* spp., um caso clínico de septicemia secundária por infeção de pele e tecidos moles foi solucionado com ciprofloxacina e cefepima (Coutinho et al., 2013). No Japão vários pacientes com septicemia primária e secundária por *Aeromonas* spp. e com outras patologias associadas fizeram monoterapia com carbapenemos (meropenem, por exemplo), à exceção de um paciente que fez cefepima com isepamicina (Morinaga et al., 2011). Em relação às grávidas, a terapêutica antibiótica na septicemia por *Aeromonas* spp. pode incluir carbapenemos, cefalosporinas de largo espectro ou fluoroquinolonas (Turner et al., 2012). Tem-se que as cefalosporinas de largo espectro são as mais apropriadas neste tipo de infeção por *Aeromonas* (Chuang et al., 2011).

Assim, de forma a sintetizar toda a informação, a tabela 6 contém as classes antibióticas organizadas consoante a capacidade de inibir de uma forma geral as espécies do género *Aeromonas*.

Tabela 6 - Sensibilidade antibiótica das bactérias do género *Aeromonas*<sup>15</sup>. Adaptado de (Janda & Abbott, 2010).

Perfil de sensibilidade (% de isolados)	Classe Antibiótica
Sensível (90-100)	Aminoglicosídeos
	Carbapenemos
	Cefalosporinas (largo espectro)
	Cefalosporinas de 4ª geração
	Macrólidos (azitromicina)
	Monobactams
	Nitrofuranos
	Penicilinas <sup>16</sup>
	Fenicóis
	Quinolonas
	Tetraciclinas
Intermédio (70-90)	Aminoglicosídeos (tobramicina)
	Anti-folatos (trimetoprim-sulfametoxazol)
	Cefalosporinas (cefoxitina)
Resistente (<70)	Anti-folatos (sulfametoxazol)
	Cefalosporinas (espectro estreito)
	Penicilinas <sup>17</sup>
	Macrólidos (claritromicina)
	Penicilinas (oxacilina, penicilina)

Tendo em conta o que foi descrito, e ao facto das infeções poderem ser polimicrobianas com diversas resistências, a terapêutica empírica das infeções por *Aeromonas* spp. é complexa de se definir, mas de uma forma geral devem conter uma cefalosporina de 3ª ou 4ª geração ou uma fluoroquinolona, podendo ser incluída em situações mais complicadas, a gentamicina ou a amicacina (Lamy et al., 2009; Orsini & Sakoulas, 2007).

Quanto à duração da terapêutica das infeções por *Aeromonas* spp., não existe informação descrita e como tal o clínico deve ter em conta a evolução do doente face à terapêutica aplicada (Morris & Horneman, 2013).

<sup>15</sup> Símbolos: <, menor.

<sup>16</sup> Azlocilina, piperacilina, piperacilina-tazobactam.

<sup>17</sup> Amoxicilina, ampicilina, ampicilina-sulbactam, ticarcilina.

### 8.1.3. Resistências aos Antibióticos em *Aeromonas*

Os antibióticos foram uma grande mais-valia aquando do seu aparecimento. Entretanto com o decorrer dos anos as bactérias, devido a uma serie de fatores, têm vindo a ganhar resistência a vários fármacos deste grupo terapêutico. Esta é uma situação muito delicada para a saúde pública, uma vez que várias condicionantes clínicas estão dependentes de antibióticos (Davies & Davies, 2010). As bactérias do género *Aeromonas* spp. não são exceção, apresentam uma grande diversidade de resistências a antibióticos e em determinadas situações clínicas é necessário recorrer a estes fármacos (Ghenghesh, El-Mohammady, Levin, Zorgani & Tawil, 2013; Saavedra, 2012). Desde os anos 90, a humanidade tem assistido a uma diminuição da suscetibilidade aos antimicrobianos por *Aeromonas* (Quiroga & Vergara, 2011).

Os microrganismos *Aeromonas* spp. são conhecidos por serem resistentes às penicilinas (penicilina, ampicilina, carbenecilina, ticarcilina, meticilina), eritromicina, clindamicina, vancomicina, cefalosporinas de 1ª geração (Carvalho, Martínez-Murcia, Esteves, Correia & Saavedra, 2012; Farmer III et al., 2006; Igbinosa et al., 2012). Algumas destas resistências, nomeadamente a das penicilinas e das cefalosporinas de 1ª geração, são explicadas pela produção de  $\beta$ -lactamases intrínsecas da bactéria (codificadas a nível cromossómico), penicilinases da classe D e a cefalosporinase classe C, respetivamente (Libisch, Giske, Kovács, Tóth & Füzi, 2008). Contudo existem algumas estirpes que são sensíveis à ampicilina nomeadamente *Aeromonas trota* e determinadas estirpes de *Aeromonas caviae*, sendo que ambas podem estar envolvidas em infeções humanas. Por isso, a introdução deste antibiótico em meio de cultura deve ser considerado, uma vez que pode influenciar os resultados (Awan et al., 2009). Relativamente aos antibióticos aos quais *Aeromonas* spp., regra geral, são sensíveis englobam os aminoglicosídeos (gentamicina, amikacina e tobramicina), as tetraciclinas, o cloranfenicol, o trimetoprim-sulfametoxazol, as quinolonas, a piperacilina, as cefalosporinas de 2ª e de 3ª geração e a nitrofurantoína (Farmer III et al., 2006; Igbinosa et al., 2012). Apesar deste perfil típico, tanto a nível de resistências como de sensibilidades aos antibióticos, tem-se observado de estudo para estudo algumas variações, que ao que tudo indicam estão associadas às especificidades da estirpe, localização geográfica bem como ao conjunto de condições ambientais que favorecem determinadas características (Aravena-Román, Inglis, Henderson, Riley & Chang, 2012; Awan et al., 2009; Carvalho et al., 2012; Liu, Huang, Liao & Hsueh, 2008). Assim, tem-se assistido ao ganho de resistências por parte de *Aeromonas* spp. aos antibióticos,



tanto em amostras clínicas e ambientais (por exemplo, a água) como de alimentos (Alcaide, Blasco & Esteve, 2010). Exemplo disso mesmo foi o estudo realizado por Ghenghesh e colaboradores (2013) que tinha como objetivo determinar a suscetibilidade dos antibióticos em amostras clínicas (fezes diarreicas e não diarreicas), de alimentos (galinha) e ambientais (água não tratada) na Líbia. Neste estudo, as amostras de alimentos e ambientais não apresentaram qualquer resistência ao trimetoprim-sulfametoxazol ao passo que 13,6% das estirpes isoladas de fezes diarreicas tinham resistência ao mesmo (Ghenghesh et al., 2013). Outro exemplo ainda mais robusto é duas estirpes da mesma espécie e com a mesma origem apresentarem resistências diferentes, como no estudo realizado por Alcaide e colaboradores (2010) em que duas *Aeromonas media* isoladas do rio Júcar em Espanha, uma tinha resistência às quinolonas e à ticarcilina e a outra tinha para além dessas, à piperacilina e eritromicina.

Tendo em conta as resistências antibióticas que foram mencionadas nos exemplos anteriores, torna-se notório que alguns antibióticos têm vindo a diminuir a sua eficácia sobre espécies de *Aeromonas*. Na África do Sul, em Limpopo, foi executado um estudo de suscetibilidade antibiótica a 104 *Aeromonas* (*Aeromonas hydrophila* (85,6%), *Aeromonas sobria* (11,5%) e *Aeromonas caviae* (2,9%)) isoladas de fezes diarreicas. Observou-se que algumas *Aeromonas* eram resistentes a duas cefalosporinas de 3ª e 4ª geração, a cefotaxima em 34% e a cefepima em 26%. No grupo dos carbapenemos e quinolonas, estas bactérias também apresentaram resistência ao meropenem, ao imipenem e à ciprofloxacina, apesar de baixa (7%, 11% e 12% respetivamente) (Obi et al., 2007). Além das duas  $\beta$ -lactamases referidas anteriormente (penicilinas da classe D e a cefalosporinase classe C), a metalo- $\beta$ -lactamase classe B pode originar outras resistências que *Aeromonas* têm vindo a apresentar nomeadamente no grupo dos carbapenemos (Libisch et al., 2008). Outro exemplo deste tipo de resistência foi detetada numa paciente de 88 anos com colangite por *Aeromonas veronii* biovar *sobria* que apresentava elevada resistência ao imipenem. A senhora fez uma terapêutica de 10 dias com piperacilina-tazobactam (Sánchez-Céspedes et al., 2009). Relativamente às quinolonas, mais concretamente as fluoroquinolonas, são amplamente usadas na terapêutica de infeções por *Aeromonas*, contudo também tem sido observado um aumento de resistências a estas (Alcaide et al., 2010). Vários casos de terapia alternativa com sanguessugas, precedentes de intervenção cirúrgica, que utilizaram a ciprofloxacina como medida profilática resultaram em infeções (Giltner, Bobenchik, Uslan, Deville & Humphries, 2013; Patel, Svestka, Sinkin & Ruff IV, 2013). Após

testes de suscetibilidade antibiótica, uma das pacientes foi tratada com piperacilina-tazobactam e metronidazol (infecção polimicrobiana com *Aeromonas hydrophila*) (Giltner et al., 2013), ao passo que a outra paciente fez terapêutica com aztreonam (*Aeromonas hydrophila* com resistência a vários antibióticos) (Patel et al., 2013). Desta forma, recomenda-se uma terapêutica profilática numa associação de fluoroquinolonas com outro antibiótico (trimetoprim-sulfametoxazol ou tetraciclina) (Giltner et al., 2013). Foi detectado um caso de resistência à ciprofloxacina numa paciente a fazer diálise peritoneal contínua em ambulatório com diagnóstico de peritonite por *Aeromonas hydrophila*, tendo realizado tratamento com ceftazidima com êxito (Sahin & Barut, 2010). Em Espanha, foi efetuado um estudo de suscetibilidade às fluoroquinolonas em 24 *Aeromonas veronii* biovar *sobria* e 16 *Aeromonas caviae* resistentes ao ácido nalidíxico, isoladas de fezes diarreicas. Em relação a *Aeromonas veronii* biovar *sobria*, 4% eram resistentes à ciprofloxacina, 33,33% à norfloxacina e 8,3% à ofloxacina, ao passo que *Aeromonas caviae* apresentaram uma resistência superior, 18,75% à ciprofloxacina, 43,75% à norfloxacina e 18,75% à ofloxacina (Arias, Seral, Gude & Castillo, 2010). Quanto ao aparecimento destas resistências Vila e colaboradores (2002) indicam que caso a bactéria seja resistente ao ácido nalidíxico, a utilização de fluoroquinolonas deve ser evitada porque o microrganismo apresenta propensão para gerar resistências a estas.

No que toca às resistências a tetraciclina, no estudo realizado na Líbia, cerca de 18,2% de *Aeromonas* spp. presentes nas fezes diarreicas e 9,1% nas fezes não diarreicas apresentaram resistência a estas (Ghenghesh et al., 2013). Em França, de 70 *Aeromonas* spp. (*Aeromonas hydrophila* (35,8%), *Aeromonas caviae* (21,4%), *Aeromonas veronii* (40%), *Aeromonas allosaccharophila* (1,4%), *Aeromonas jandaei* (1,4%)) em análise, provenientes de vários tipos de infeção (pele e tecidos moles, bacteriemia e gastrointestinal), 11,1% eram resistentes a esta classe antibiótica (Lamy et al., 2009). O caso mais preocupante foi registado no Taiwan, onde 39,3% de *Aeromonas* spp. (*Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae* e *Aeromonas sobria*) provenientes de amostras clínicas eram resistentes às tetraciclina (Liu et al., 2008). Nos indivíduos com diarreia do viajante por *Aeromonas* spp., *Aeromonas veronii* biovar *sobria* e *Aeromonas caviae* apresentaram uma resistência às tetraciclina de 44,4% e 28,6% respetivamente. A resistência às tetraciclina nos países subdesenvolvidos assim como nos viajantes provenientes desses países, pode estar potenciada pela utilização abusiva desta classe antibiótica (Vila et al., 2003).

Já no grupo dos aminoglicosídeos, apesar de poucas resistências descritas em *Aeromonas* spp., estas também se têm verificado (Shak, Whitaker, Ribner & Burd, 2011). Exemplo disso mesmo, foi o estudo realizado em França (já mencionado anteriormente) em que 18,1% das estirpes de *Aeromonas* testadas apresentavam resistência à tobramicina (Lamy et al., 2009). Um outro estudo envolveu 47 *Aeromonas aquariorum* isoladas de diversas amostras clínicas (fezes, pus, entre outras). Deste conjunto de *Aeromonas aquariorum*, 13% demonstraram resistência à gentamicina e 6% à canamicina (Puah, Puthucheary, Liew & Chua, 2013). Num caso clínico em particular, além de ter sido detetada resistência aos aminoglicosídeos, nomeadamente a amicacina, gentamicina e tobramicina, foi também assinalada resistência às cefalosporinas de 3<sup>a</sup> (ceftazidima, ceftriaxona e cefotaxima) e 4<sup>a</sup> geração (cefepima), carbapenemos (ertapenem), monobactams (aztreonam) e tetraciclina, além da vulgar resistência à ampicilina e ceftioxima. A bactéria *Aeromonas hydrophila* foi a espécie responsável por este caso de múltiplas resistências, verificado numa única estirpe isolada de uma lesão de tecidos moles exposta a água do rio. Como a lesão era polimicrobiana fez-se uma terapêutica de dois dias com vancomicina, piperacilina-tazobactam, amicacina e levofloxacina e posteriormente vancomicina e piperacilina-tazobactam (Shak et al., 2011).

Este microrganismo também tem apresentado resistências a outros antimicrobianos, nomeadamente o trimetoprim-sulfametoxazol, amoxicilina-ácido clavulânico, piperacilina e cloranfenicol alguns dos quais com elevadas percentagens (Ghenghesh et al., 2013; Lamy et al., 2009; Puah et al., 2013; Vila et al., 2003).

Vários fatores têm sido apontados para justificar esta situação: o uso de antibióticos na indústria alimentar como aditivos, a utilização na aquacultura e na veterinária e consequentemente no meio ambiente, a fácil acessibilidade ao antibiótico e resultante uso abusivo do mesmo (Arias et al., 2010; Ghenghesh et al., 2008; Vila et al., 2003). No que refere à bactéria, a presença de  $\beta$ -lactamases bem como de plasmídeos que transportam e codificam para tais resistências, também estão envolvidos (Libisch et al., 2008; Puah et al., 2013). Além disso, os integrões que têm sido isolados, também parecem ter envolvimento na resistência a alguns antibióticos como os aminoglicosídeos, o cloranfenicol e trimetoprim (Chang, Shih, Wang & Yang, 2007).

Tendo em conta o crescente ganho de resistências por parte de *Aeromonas* spp. aos diversos antibióticos que até então eram utilizados empiricamente nas infeções, torna-se necessário que a terapêutica empírica seja composta por várias associações de

antibióticos de forma a cobrir as diferentes resistências adquiridas (Sánchez-Céspedes et al., 2009). Além disso os doentes devem ser monitorizados para avaliar a efetividade da terapêutica, para além de se realizarem os indispensáveis testes de determinação da suscetibilidade aos antibióticos (Quiroga & Vergara, 2011).

## 8.2. Outros Tratamentos

Em algumas infeções por *Aeromonas* é necessário recorrer a outros tipos de tratamento, uns para complementar a terapêutica antibiótica outros para restabelecer a paciente. Em relação a este último, ocorre sobretudo nas infeções gastrointestinais por *Aeromonas* spp. de fácil resolução, sendo geralmente solucionadas com a administração de constituintes de rehidratação, nomeadamente fluidos e eletrólitos, descartando-se utilização de antibióticos (Ghenghesh et al., 2013).

Em determinados casos, por exemplo nas infeções de pele e tecidos moles após intervenção cirúrgica à cavidade abdominal, a drenagem do local infetado por vezes é o quanto basta no tratamento (Tena et al., 2009). Ainda nas infeções de pele e tecidos moles, a drenagem pode complementar-se com os antibióticos (intravenosos, orais ou tópicos), sendo por vezes necessário o desbridamento do membro ou até mesmo amputação (Behera et al., 2011; Kienzle et al., 2000). A fascíte necrosante e a miosite necrosante estão fortemente associadas a este tipo de intervenções, sobretudo para a extração das zonas necrosadas (Kienzle et al., 2000; Likitarunrat, 2008). Após tais intervenções médicas em lesões de pele e tecidos moles, podem ainda ser realizados diariamente banhos de clorexidina para diminuir acentuadamente a população microbiana (Kienzle et al., 2000).

O processo de drenagem pode também ser requerido em infeções intra-abdominais, nomeadamente nos abscessos e no sistema biliar (Clark & Chenoweth, 2003).

### 8.2.1. Novos Tratamentos em Estudo

Como referido anteriormente, as resistências aos antibióticos em *Aeromonas* spp. têm aumentado progressivamente, e como tal torna-se cada vez mais necessário a descoberta de novas moléculas. Prova disso mesmo, foi o estudo realizado por Singh e colaboradores (2012), que determinou pelo menos dois fármacos, a cinodina I e a ciclotialidina, com possível ação sobre a ADN girase (enzima preponderante na multiplicação das células bacterianas), mais concretamente na subunidade B, de

*Aeromonas hydrophila*. Esta avaliação foi estabelecida por possíveis interações moleculares em programas informáticos.

Outra terapêutica alternativa incide sobre a utilização de plantas medicinais. Um ensaio *in vitro* demonstrou que os óleos essenciais extraídos das plantas Muninga (*Pterocarpus angolensis*), Umdoni (*Syzygium cordatum*) e Lukandulula (*Zornia milneana*) exibiam boa atividade inibitória sobre várias espécies de *Aeromonas*. Estas plantas podem representar uma nova solução no tratamento das infeções por *Aeromonas* e além disso são monetariamente menos dispendiosas podendo ser uma grande mais-valia para os países subdesenvolvidos (Obi et al., 2007).

## 9. Prevenção

As infeções por *Aeromonas* são sobretudo desencadeadas pelo contato com a água e alimentos inquinados (Ghenghesh et al., 2008). Como tal, é necessário acautelar tais infeções através de medidas preventivas. Os alimentos têm sido considerados uma das fontes de transmissão de doença por *Aeromonas* (Daskalov, 2006). Um dos principais problemas deste género bacteriano nos produtos alimentares é o de algumas espécies terem a valência de crescer a temperaturas de refrigeração (entre os 2 e os 7°C) mantendo a capacidade de produzir os fatores que contribuem para a sua patogenicidade (Nagar & Bandekar, 2011; Uyttendaele, Neyts, Vanderswalmen, Notebaert & Debevere, 2004). Mas o estudo realizado por Palumbo e colaboradores (1991) indica que uma temperatura baixa em conjunto com o pH, o sal e os nitritos reduzem a multiplicação de *Aeromonas hydrophila*. Já Devlieghere e colaboradores (2000) indicam que uma atmosfera modificada com dióxido de carbono e baixa atividade da água (menor que 0,985) em embalagens de carne cozida afastaria a possível multiplicação de *Aeromonas hydrophila*. Outras condições podem contribuir para restringir o crescimento da *Aeromonas hydrophila*, nomeadamente o oxigénio e os fosfatos (Daskalov, 2006).

O método de irradiação foi testado sobre vários alimentos vendidos na Índia, peixe, carne de frango e legumes. Os autores concluíram que uma radiação de 1,5 kilo-Gray é suficiente para reduzir em  $10^5$  UFC/grama as espécies de *Aeromonas* presentes em tais alimentos. Tendo em conta que o número de UFC de *Aeromonas* por grama nos alimentos é cerca de  $10^2$  a  $10^5$  UFC/grama e que a dose para causar infeção é de  $10^3$  a  $10^9$  UFC/g (em determinadas estirpes pode ser inferior para grupos da população mais suscetíveis), a irradiação demonstra ser um método eficaz na erradicação de *Aeromonas* nos alimentos (Nagar & Bandekar, 2011).

Um outro estudo observou uma boa atividade inibitória do ácido láctico (2%) sobre um vegetal minimamente processado. A regressão de aproximadamente 2,5log nas amostras de cenoura ralada foi rapidamente alcançada, devido possivelmente à diminuição do pH para uma gama intolerável por *Aeromonas*. É importante referir que as características organoléticas do alimento mantiveram-se aceitáveis. Este antimicrobiano pode ser uma mais-valia no controlo de *Aeromonas* nos alimentos (Uyttendaele et al., 2004).

Como referido anteriormente, as bactérias do género *Aeromonas* estão fortemente ligadas ao meio aquático e como tal, a água própria para consumo provem de fontes que muito provavelmente contém este microrganismo (Chauret et al., 2001). Atendendo a esta situação, várias medidas têm sido implementadas de forma a prevenir a população. Em 1998 a *United States Environmental Protection Agency* publicou a primeira lista de contaminantes de água potável tendo em vista uma regulamentação futura, lista na qual *Aeromonas hydrophyla* foi incluída (Environmental Protection Agency, 1998). No ano anterior em Itália, foram impostos limites preventivos para a presença de *Aeromonas* na água mineral, de 10 UFC/100 mililitro na água de origem e 100 UFC/100 mililitros na água engarrafada (Ministério da Saúde Italiano, 1997). Portanto, um controlo microbiológico eficaz no tratamento das águas, nomeadamente o cloro residual e a baixa turbidez são essenciais na prevenção de *Aeromonas* nas águas para consumo (Egorov, Best, Frebis & Karapondo, 2011). Além disso, uma temperatura inferior a 14°C e uma baixa concentração de compostos de carbono também limitam o crescimento desta bactéria (World Health Organization, 2002).

Em relação ao controlo das infeções gastrointestinais na população (mais concretamente as gastroenterites), as condições de saneamento básico, higienização das mãos, confeção dos alimentos (alimentos bem cozinhados em detrimento dos crus - 56°C durante 10 minutos usualmente inviabiliza o microrganismo e as enterotoxinas citotóxicas), bem como a supervisão de todos estes pressupostos são de máxima importância na prevenção das infeções por *Aeromonas* (Edberg et al., 2007; Igbinosa et al., 2012; Wu et al., 2012). Além disso e tendo em conta que a maioria das infeções por *Aeromonas* são de carácter gastrointestinal, a elevada ocorrência desta bactéria ao nível alimentar (incluindo a água) torna-se uma grande advertência para a saúde da população (Nagar & Bandekar, 2011).

No que se refere à presença de *Aeromonas* na aquacultura, estas têm produzido elevados gastos monetários pelas diversas infeções que causam (Wu et al., 2012).

Assim, é necessário excluir os animais infetados e manter os níveis desta bactéria diminuídos através da supervisão da temperatura, limpeza do material e sobretudo através do controlo da qualidade da água. Estes fatores são de extrema importância devido à possibilidade de infeção em seres humanos quando os produtos são consumidos sem qualquer cozimento (Igbinosa et al., 2012). Tendo em conta que é essencial reduzir a utilização de antibióticos nesta atividade, tem-se investigado a utilização de vacinas para peixes mas até ao momento nenhuma foi comercializada (Wu et al., 2012).

Para finalizar a prevenção das infeções por *Aeromonas*, resta ainda ressaltar que as queratites por *Aeromonas* devido à utilização de lentes de contato podem ser facilmente evitáveis por meio de uma correta higienização das lentes com produtos de desinfecção adequados (Pinna et al., 2004).

## 10. Conclusão

As bactérias do género *Aeromonas* estão naturalmente presentes em meio aquático. Encontram-se sobretudo associadas aos países subdesenvolvidos e a climas temperados, tropicais e subtropicais.

Estão descritas como bactérias oportunistas pelo facto de afetarem com maior frequência as crianças, os idosos e os imunocomprometidos, todavia também se tem registado casos de infeção em indivíduos saudáveis. Pacientes com comorbidades como a patologia hepática ou pacientes a realizar terapia imunossupressora ou indivíduos hospitalizados estão mais propensos à infeção. As espécies mais vulgarmente mencionadas nas infeções humanas incluem *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas veronii* biovar *sobria*. De entre os vários tipos de infeção que estas bactérias provocam, o maior destaque vai para as gastroenterites e para as infeções de pele e tecidos moles. As bactérias *Aeromonas* são cada vez mais reconhecidas como causadoras de intoxicações alimentares, tendo já sido isoladas de diversos tipos de alimentos, principalmente dos produtos oriundos do meio aquático.

Apesar do crescente interesse neste género microbiano e da pesquisa até então realizada, a sua taxonomia, filogenia, os métodos para deteção e identificação, o processo de invasão e os fatores de virulência ainda não estão completamente esclarecidos, sendo necessária mais investigação nestas áreas, pois a falta de informação/incompreensão destes fatores dificultam a correta avaliação do clínico e subsequente tratamento. Esta situação releva ainda mais a sua importância quando as patologias causadas por *Aeromonas* apresentam consequências drásticas para o paciente, desde graves danos ou até mesmo a morte.

É importante também dar a conhecer à comunidade médica as características de *Aeromonas* bem como as possíveis fontes de infeção e sintomas, de forma a que possam considerar *Aeromonas* como agentes etiológicos de determinadas infeções. Além disso, a terapêutica e outros procedimentos médicos são também importantes de forma a poderem atuar rapidamente para limitarem a progressão da doença.

No que toca à população em geral, é necessário informar sobre as medidas preventivas, especialmente em relação aos alimentos nos quais se inclui a água. Estas medidas ganham maior relevância nos indivíduos que viajam para países subdesenvolvidos onde há maior prevalência desta bactéria.



## 11. Bibliografia

- Abbott, S. L., Cheung, W. K. W., e Janda, J. M. (2003). The Genus *Aeromonas*: Biochemical Characteristics, Atypical Reactions, and Phenotypic Identification Schemes. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(6), 2348-2357.
- Aguilera-Arreola, M. G., Portillo-Muñoz, M. I., Rodríguez-Martínez, C., e Castro-Escarpulli, G. (2012). Usefulness of Chromogenic CromoCen® AGN agar medium for the identification of the genus *Aeromonas*: Assessment of faecal samples. *Journal of Microbiological Methods*, 90(2), 100-104.
- Ahishali, E., Pinarbasi, B., Akyuz, F., Ibrisim, D., Kaymakoglu, S., e Mungan, Z. (2007). A case of *Aeromonas hydrophila* enteritis in the course of ulcerative colitis. *European Journal of Internal Medicine*, 18(5), 430-431.
- Al-Benwan, K., Abbott, S. L., Janda, J. M., Huys, G., e Albert, M. J. (2007). Cystitis Caused by *Aeromonas caviae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(7), 2348-2350.
- Al-Mujaini, A., Al-Kharusi, N., Thakral, A., e Wali, U. K. (2009). Bacterial Keratitis: Perspective on Epidemiology, Clinico-Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 9(2), 184-195.
- Albert, M. J., Ansaruzzaman, M., Talukder, K. A., Chopra, A. K., Kuhn, I., Rahman, M., . . . Mollby, R. (2000). Prevalence of Enterotoxin Genes in *Aeromonas* spp. Isolated From Children with Diarrhea, Healthy Controls, and the Environment. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(10), 3785-3790.
- Alcaide, E., Blasco, M., e Esteve, C. (2010). Mechanisms of quinolone resistance in *Aeromonas* species isolated from humans, water and eels. *Research in Microbiology*, 161(1), 40-45.
- Alperi, A., e Figueras, M. J. (2010). Human isolates of *Aeromonas* possess Shiga toxin genes (stx1 and stx2) highly similar to the most virulent gene variants of *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(10), 1563-1567.
- Andělová, A., Porazilová, I., e Krejčí, E. (2006). *Aeromonas* agar is a useful selective medium for isolating aeromonads from faecal samples. *Journal of Medical Microbiology*, 55(11), 1605-1606.
- Apisarnthanarak, A., Pheerapiboon, P., Apisarnthanarak, P., Kiratisin, P., e Mundy, L. M. (2008). Fulminant Epiglottitis with Evolution to Necrotizing Soft Tissue Infections and Fasciitis due to *Aeromonas hydrophila*. *Infection*, 36(1), 94-95.
- Aravena-Román, M., Beaz-Hidalgo, R., Inglis, T. J. J., Riley, T. V., Martínez-Murcia, A. J., Chang, B. J., e Figueras, M. J. (2013). *Aeromonas australiensis* sp. nov., isolated from irrigation water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 63(Pt 6), 2270-2276.
- Aravena-Román, M., Inglis, T. J. J., Henderson, B., Riley, T. V., e Chang, B. J. (2012). Antimicrobial Susceptibilities of *Aeromonas* Strains Isolated from Clinical and Environmental Sources to 26 Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(2), 1110-1112.
- Arévalo, J. F., Davis, J. L., Dodds, E., e Zeballos, D. G. (2013). Endogenous endophthalmitis. In J. F. Arévalo (Ed.), *Retinal and choroidal manifestations of selected systemic diseases* (pp. 193-209). Nova Iorque, EUA: Springer.
- Arias, A., Seral, C., Gude, M. J., e Castillo, F. J. (2010). Molecular mechanisms of quinolone resistance in clinical isolates of *Aeromonas caviae* and *Aeromonas veronii* bv. *sobria*. *International Microbiology*, 13(3), 135-141.
- Audia, J. P., Webb, C. C., e Foster, J. W. (2001). Breaking through the acid barrier: An orchestrated response to proton stress by enteric bacteria. *International Journal of Medical Microbiology*, 291(2), 97-106.

- Avolio, M., Spisa, C. L., Moscariello, F., Rosa, R. D., e Camporese, A. (2009). *Aeromonas hydrophila* ecthyma gangrenosum without bacteraemia in a diabetic man: the first case report in Italy. *Le Infezioni in Medicina*, 17(3), 184-187.
- Awan, M. B., Maqbool, A., Bari, A., e Krovacek, K. (2009). Antibiotic susceptibility profile of *Aeromonas* spp. isolates from food in Abu Dhabi, United Arab Emirates. *New Microbiologica*, 32(1), 17-23.
- Awan, M. B., Ahmed, M. M., Bari, A., e Saad, M. (2005). Biochemical characterization of the *Aeromonas* species isolated from food and environment. *Pak J Physiol*, 1(1-2), 1-10.
- Bardy, S. L., Ng, S. Y. M., e Jarrell, K. F. (2003). Prokaryotic motility structures. *Microbiology*, 149(2), 295-304.
- Beaz-Hidalgo, R., Alperi, A., Buján, N., Romalde, J. L., e Figueras, M. J. (2010). Comparison of phenotypical and genetic identification of *Aeromonas* strains isolated from diseased fish. *Systematic and Applied Microbiology*, 33(3), 149-153.
- Behera, B., Bhoiriwal, S., Mathur, P., Sagar, S., Singhal, M., e Misra, M. C. (2011). Post-traumatic skin and soft tissue infection due to *Aeromonas hydrophila*. *Indian J Crit Care Med.*, 15(1), 49-51.
- Benagli, C., Demarta, A., Caminada, A., Ziegler, D., Petrini, O., e Tonolla, M. (2012). A Rapid MALDI-TOF MS Identification Database at Genospecies Level for Clinical and Environmental *Aeromonas* Strains. *PLoS ONE*, 7(10), e48441.
- Bergan, J., Lingelem, A. B. D., Simm, R., Skotland, T., e Sandvig, K. (2012). Shiga toxins. *Toxicon*, 60(6), 1085-1107.
- Biswas, S., e Rolain, J. (2013). Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. *Journal of Microbiological Methods*, 92(1), 14-24.
- Blackwell, H. E., e Fuqua, C. (2011). Introduction to Bacterial Signals and Chemical Communication. *Chemical Reviews*, 111(1), 1-3.
- Bochner, B. R. (2009). Global phenotypic characterization of bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 33(1), 191-205.
- Borrell, N., Acinas, S. G., Figueras, M. J., e Martínez-Murcia, A. J. (1997). Identification of *Aeromonas* clinical isolates by restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(7), 1671-1674.
- Bossi-Küpfer, M., Genini, A., Peduzzi, R., e Demarta, A. (2007). Tracheobronchitis caused by *Aeromonas veronii* biovar *sobria* after near-drowning. *Journal of Medical Microbiology*, 56(11), 1563-1564.
- Bravo, L., Fernández, A., Núñez, F. Á., Rivero, L. A., Ramírez, M., Águila, A., . . . Hernández, J. (2012). *Aeromonas* spp. asociada a enfermedad diarreica aguda en Cuba: estudios de casos y controles. *Revista chilena de infectología*, 29(1), 44-48.
- Bücker, R., Krug, S. M., Rosenthal, R., Günzel, D., Fromm, A., Zeitz, M., . . . Schulzke, J. (2011). Aerolysin From *Aeromonas hydrophila* Perturbs Tight Junction Integrity and Cell Lesion Repair in Intestinal Epithelial HT-29/B6 Cells. *Journal of Infectious Diseases*, 204(8), 1283-1292.
- Burnet, S., Huntley, A., e Kemp, K. M. (2007). Meningitis: the inflamed brain. *Nursing Critical Care*, 2(4), 28-26.
- Carrola, P., Militão, I., e Presa, J. (2013). Infecções bacterianas no doente com cirrose hepática. *GE J Port Gastreenterol.*, 20(2), 58-65.

- Carvalho, M. J. M. (2010). *Diversity of Aeromonas species from different environments in Portugal*. (Dissertação de Doutoramento), Universidade de Aveiro, Portugal.
- Carvalho, M. J. M., Martínez-Murcia, A., Esteves, A. C., Correia, A., e Saavedra, M. J. (2012). Phylogenetic diversity, antibiotic resistance and virulence traits of *Aeromonas* spp. from untreated waters for human consumption. *International Journal of Food Microbiology*, 159(3), 230-239.
- Casadevall, A., e Pirofski, L. (2001). Host-Pathogen Interactions: The Attributes of Virulence. *Journal of Infectious Diseases*, 184(3), 337-344.
- Chacón, M. R., Castro-Escarpulli, G., Soler, L., Guarro, J., e Figueras, M. J. (2002). A DNA probe specific for *Aeromonas* colonies. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 44(3), 221-225.
- Chan, K., Puthucherry, S. D., Chan, X., Yin, W., Wong, C., Too, W., e Chua, K. (2011). Quorum Sensing in *Aeromonas* Species Isolated from Patients in Malaysia. *Current Microbiology*, 62(1), 167-172.
- Chan, S. S., e Ng, K. C. (2004). *Aeromonas* spp. and Infectious Diarrhea, Hong Kong *Emerging Infectious Diseases*, 10(8), 1506-1507.
- Chang, Y., Shih, D. Y., Wang, J., e Yang, S. (2007). Molecular characterization of class 1 integrons and antimicrobial resistance in *Aeromonas* strains from foodborne outbreak - suspect samples and environmental sources in Taiwan. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 59(2), 191-197.
- Chao, C., Gau, S., e Lai, C. (2012). *Aeromonas* genitourinary tract infection. *Journal of Infection*, 65(6), 573-575.
- Chao, C. M., Lai, C. C., Tang, H. J., Ko, W. C., e Hsueh, P. (2013). Skin and soft-tissue infections caused by *Aeromonas* species. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 32(4), 543-547.
- Chao, C. M., Lai, C. C., Tsai, H. Y., Wu, C. J., Tang, H. J., Ko, W. C., e Hsueh, P. (2013). Pneumonia caused by *Aeromonas* species in Taiwan, 2004–2011. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 32(8), 1069-1075.
- Chaudhari, T., e Todd, D. A. (2009). *Aeromonas hydrophila* sepsis in a preterm neonate. *Indian Pediatrics*, 46(10), 913-914.
- Chauret, C., Volk, C., Creason, R., Jarosh, J., Robinson, J., e Warnes, C. (2001). Detection of *Aeromonas hydrophila* in a drinking - water distribution system: a field and pilot study. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(8), 782-786.
- Chen, W., Huang, J., Chen, K., Hsueh, P., e Yang, P. (2006). Spontaneous bilateral bacterial empyema in a patient with nephrotic syndrome. *Journal of Infection*, 53(3), e131-e134.
- Chim, H., e Song, C. (2007). *Aeromonas* infection in critically ill burn patients. *Burns*, 33(6), 756-759.
- Choi, J., Lee, S., Kwon, H., Kwak, Y. G., Choi, S., Lim, S. K., . . . Kim, Y. S. (2008). Clinical Significance of Spontaneous *Aeromonas* Bacterial Peritonitis in Cirrhotic Patients: A Matched Case - Control Study. *Clinical Infectious Diseases*, 47(1), 66-72.
- Chongsuvivatwong, V., Chariyalertsak, S., McNeil, E., Aiyarak, S., Hutamai, S., DuPont, H. L., . . . Steffen, R. (2009). Epidemiology of Travelers' Diarrhea in Thailand. *Journal of Travel Medicine*, 16(3), 179-185.
- Chopra, A. K., Graf, J., Horneman, A., e Johnson, J. A. (2009). Virulence factor–activity relationships (VFAR) with specific emphasis on *Aeromonas* species (spp.). *Journal of Water and Health*, 7(Supl. 1), S29-S54.

- Chopra, A. K., e Houston, C. W. (1999). Enterotoxins in *Aeromonas* - associated gastroenteritis. *Microbes and Infection*, 1(13), 1129-1137.
- Chopra, A. K., Peterson, J. W., Xu, X. J., Copenhagen, D. H., e Houston, C. W. (1996). Molecular and biochemical characterization of a heat-labile cytotoxic enterotoxin from *Aeromonas hydrophila*. *Microbial Pathogenesis*, 21(5), 357-377.
- Christensen, H., Bisgaard, M., Frederiksen, W., Mutters, R., Kuhnert, P., e Olsen, J. E. (2001). Is characterization of a single isolate sufficient for valid publication of a new genus or species? Proposal to modify recommendation 30b of the Bacteriological Code (1990 Revision). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51(6), 2221-2225.
- Chu, B. C., Garcia-Herrero, A., Johanson, T. H., Krewulak, K. D., Lau, C. K., Peacock, R. S., . . . Vogel, H. J. (2010). Siderophore uptake in bacteria and the battle for iron with the host; a bird's eye view. *BioMetals*, 23(4), 601-611.
- Chuang, H. , Ho, Y., Lay, C., Wang, L., Tsai, Y., e Tsai, C. (2011). Different Clinical Characteristics Among *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii* biovar *sobria* and *Aeromonas caviae* Monomicrobial Bacteremia. *Journal of Korean Medical Science*, 26(11), 1415-1420.
- Clark, N. M., e Chenoweth, C. E. (2003). *Aeromonas* Infection of the Hepatobiliary System: Report of 15 Cases and Review of the Literature. *Clinical Infectious Diseases*, 37(4), 506-513.
- Coates, A. R. M., e Hu, Y. (2007). Novel approaches to developing new antibiotics for bacterial infections. *Br J Pharmacol*, 152(8), 1147-1154.
- Coburn, B., Sekirov, I., e Finlay, B. B. (2007). Type III Secretion Systems and Disease. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(4), 535-549.
- Cohen, J. (2009). Sepsis. *Medicine*, 37(10), 562-565.
- Colwell, R. R., MacDonell, M. T., e De Ley, J. (1986). Proposal to Recognize the Family *Aeromonadaceae* fam. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 36(3), 473-477.
- Coutinho, A. S. S. L., Morais, O. O., Gomes, C. M., e Motta, J. O. C. (2013). Cutaneous abscess leading to sepsis by *Aeromonas hydrophila*. *Infection*, 41(2), 595-596.
- Daskalov, H. (2006). The importance of *Aeromonas hydrophila* in food safety. *Food Control*, 17(6), 474-483.
- Davies, J., e Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), 417-433.
- De Gascun, C. F., Rajan, L., O'Neill, E., Downey, P., e Smyth, E. G. (2007). Pancreatic abscess due to *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Infection*, 54(2), e59-e60.
- Delamare, A. P. L., Lucena, R. F., Thomazi, G., Ferrarini, S., Zacaria, J., e Echeverrigaray, S. (2012). *Aeromonas* detection and characterization using genus-specific PCR and single-strand conformation polymorphism (SSCP). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(10), 3007-3013.
- Devlieghere, F., Lefevre, I., Magnin, A., e Debevere, J. (2000). Growth of *Aeromonas hydrophila* in modified -atmosphere - packed cooked meat products. *Food Microbiology*, 17, 185-196.
- Doudier, B., Imbert, G., Vitton, V., Kahn, M., e La Scola, B. (2006). *Aeromonas* septicemia: an uncommon complication following placement of transhepatic biliary drainage devices in Europe. *Journal of Hospital Infection*, 62(1), 115-116.

- Douzi, B., Filloux, A., e Voulhoux, R. (2012). On the path to uncover the bacterial type II secretion system. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1592), 1059-1072.
- Duan, Q., Zhou, M., Zhu, L., e Zhu, G. (2013). Flagella and bacterial pathogenicity. *Journal of Basic Microbiology*, 53(1), 1-8.
- Dwivedi, M., Mishra, A., Prasad, A., Azim, A., Singh, R. K., Baronia, A. K., . . . Dwivedi, U. N. (2008). *Aeromonas caviae* septicemia in immunocompetent gastrointestinal carriers. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 12(6), 547-548.
- Easow, J. M., e Tuladhar, R. (2007). *Aeromonas hydrophila* wound infection following a tiger bite in Nepal. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 38(5), 867-870.
- Edberg, S. C., Browne, F. A., e Allen, M. J. (2007). Issues for Microbial Regulation: *Aeromonas* as a Model. *Critical Reviews in Microbiology*, 33(1), 89-100.
- Egorov, A. I., Best, J. M. B., Frebis, C. P., e Karapondo, M. S. (2011). Occurrence of *Aeromonas* spp. in a random sample of drinking water distribution systems in the USA. *Journal of Water & Health*, 9(4), 785-798.
- Eisenberg, E., e Levanon, E. Y. (2013). Human housekeeping genes, revisited. *Trends in genetics* 29(10), 569-574.
- Environmental Protection Agency (1998). Announcement of the drinking water Contaminant. *Candidate List. Federal Register* 63, 10274–10287.
- Erova, T. E., Sha, J., Horneman, A. J., Borchardt, M. A., Khajanchi, B. K., Fadl, A. A., e Chopra, A. K. (2007). Identification of a new hemolysin from diarrheal isolate SSU of *Aeromonas hydrophila*. *FEMS Microbiology Letters*, 275(2), 301-311.
- Esteve, C., e Birbeck, T. H. (2004). Secretion of haemolysins and proteases by *Aeromonas hydrophila* EO63: separation and characterization of the serine protease (caseinase) and the metalloprotease (elastase). *Journal of Applied Microbiology*, 96(5), 994-1001.
- Euzéby, J. P. (1997, 29 de Junho 2013). Genus *Aeromonas*. Acedido em 6 de julho 2013, disponível em <http://www.bacterio.net/a/aeromonas.html>
- Falkow, S. (1990). The “zen” of bacterial pathogenicity. In B. H. Iglewski e V. L. Clark (Eds.), *Molecular basis of bacterial pathogenesis* (Vol. XI, pp. 3-8). California, EUA: Academic Press, Inc.
- Farmer III, J. J., Arduino, M. J., e Hickman-Brenner, F. W. (2006). The genera *Aeromonas* and *Plesiomonas*. In M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. Schleifer e E. Stackebrandt (Eds.), *The prokaryotes* (3 ed., Vol. 6: Proteobacteria: Gamma Subclass, pp. 564-596). Nova Iorque, EUA: Springer.
- Figueras, M. J., Aldea, M. J., Fernández, N., Aspíroz, C., Alperi, A., e Guarro, J. (2007). *Aeromonas* hemolytic uremic syndrome. A case and a review of the literature. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 58(2), 231-234.
- Figueras, M. J., Alperi, A., Beaz-Hidalgo, R., Stackebrandt, E., Brambilla, E., Monera, A., e Martínez-Murcia, A. J. (2011). *Aeromonas rivuli* sp. nov., isolated from the upstream region of a karst water rivulet. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61(2), 242-248.
- Fontes, M. C., Martins, C. , Martínez-Murcia, A. J. e Saavedra, M. J. (2012). Phylogenetic Diversity of *Aeromonas* from “Alheira,” a Traditional Portuguese Meat Product. *Foodborne Pathogens and Disease*, 9(8), 713-718.
- Froquet, R., Cherix, N., Burr, S. E., Frey, J., Vilches, S., Tomas, J. M., e Cosson, P. (2007). Alternative Host Model To Evaluate *Aeromonas* Virulence. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(17), 5657-5659.

- Fujii, Y., Nomura, T., e Okamoto, K. (1999). Hemolysin of *Aeromonas sobria* stimulates production of cyclic AMP by cultured cells. *FEMS Microbiology Letters*, 176(1), 67-72.
- Garduño, R. A., Moore, A. R., Olivier, G., Lizama, A. L., Garduño, E., e Kay, W. W. (2000). Host cell invasion and intracellular residence by *Aeromonas salmonicida*: Role of the S-layer. *Canadian Journal of Microbiology*, 46(7), 660-668. doi: 10.1139/w00-034
- Gerlach, R. G., e Hensel, M. (2007). Protein secretion systems and adhesins: The molecular armory of Gram-negative pathogens. *International Journal of Medical Microbiology*, 297(6), 401-415.
- Ghatak, S., Agarwal, R. K., e Bhilegaonkar, K. N. (2006). Comparative study of cytotoxicity of *Aeromonas* spp. on four different cell lines. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 29(4), 233-241.
- Ghenghesh, K. S., Ahmed, S. F., El-Khalek, R. A., Al-Gendy, A., e Klena, J. (2008). *Aeromonas* - Associated Infections in Developing Countries. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 2(2), 81-98.
- Ghenghesh, K. S., El-Mohammady, H., Levin, S. Y., Zorgani, A., e Tawil, K. (2013). Antimicrobial resistance profile of *Aeromonas* species isolated from Libya. *Libyan Journal of Medicine*, 8, 1-2.
- Giannella, R. A., Broitman, S. A., e Zamcheck, N. (1972). Gastric acid barrier to ingested microorganisms in man: studies *in vivo* and *in vitro*. *Gut*, 13(4), 251-256.
- Giltner, C. L., Bobenchik, A. M., Uslan, D. Z., Deville, J. G., e Humphries, R. M. (2013). Ciprofloxacin-Resistant *Aeromonas hydrophila* Cellulitis following Leech Therapy. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(4), 1324-1326.
- González, M., Gude, M. J., Seral, C., Abad, M. P., Algarate, S., e Castillo, F. J. (2010). Comparación de dos métodos para la recuperación de *Aeromonas* spp. de heces a partir de agar CIN (Cefsulodina-Irgasan-Novobiocina) *Rev Esp Quimioter*, 23(4), 217-218.
- Gosling, P. J. (1996). *Aeromonas* species in diseases of animals. In B. Austin, M. Altwegg, P. J. Gosling e S. W. Joseph (Eds.), *The Genus: Aeromonas* (1 ed., pp. 175-195). Nova Iorque, EUA: John Wiley & Sons Canada, Ltd.
- Graevenitz, A. (2007). The Role of *Aeromonas* in Diarrhea: a Review. *Infection*, 35(2), 59-64.
- Graf, J. (1999). Symbiosis of *Aeromonas veronii* Biovar *sobria* and *Hirudo medicinalis*, the Medicinal Leech: a Novel Model for Digestive Tract Associations. *Infection and Immunity*, 67(1), 1-7.
- Guerrant, R. L., Steiner, T. S., Lima, A. A. M., e Bobak, D. A. (1999). How Intestinal Bacteria Cause Disease. *Journal of Infectious Diseases*, 179(Supplement 2), S331-S337.
- Hadi, N., Yang, Q., Barnett, T. C., Tabei, S. M. B., Kirov, S. M., e Shaw, J. G. (2012). Bundle-Forming Pilus Locus of *Aeromonas veronii* bv. *sobria*. *Infection and Immunity*, 80(4), 1351-1360.
- Harshey, R. M. (2003). Bacterial Motility on a Surface: Many Ways to a Common Goal. *Annual Review of Microbiology*, 57(1), 249-273.
- Hiransuthikul, N., Tantisiriwat, W., Lertutsahakul, K., Vibhagool, A., e Boonma, P. (2005). Skin and Soft-Tissue Infections among Tsunami Survivors in Southern Thailand. *Clinical Infectious Diseases*, 41(10), e93-e96.

- Ho, Y., Chuang, H., Lay, C., Wang, C., Tsai, Y., Wang, L., e Tsai, C. (2011). Polymicrobial bloodstream infection involving *Aeromonas* species: Analysis of 62 cases. *Tzu Chi Medical Journal*, 23(4), 119-122.
- Hochedez, P., Hope-Rapp, E., Olive, C., Nicolas, M., Beaucaire, G., e Cabié, A. (2010). Bacteremia Caused by *Aeromonas hydrophila* Complex in the Caribbean Islands of Martinique and Guadeloupe. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 83(5), 1123-1127.
- Hofer, E., Reis, C. M. F., Theophilo, G. N. D., Cavalcanti, V. O., Lima, N. V., e Henriques, M. F. C. M. (2006). Envolvimento de *Aeromonas* em surto de doença diarréica aguda em São Bento do Una, Pernambuco. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39(2), 217-220.
- Hua, H. T., Bollet, C., Tercian, S., Drancourt, M., e Raoult, D. (2004). *Aeromonas popoffii* Urinary Tract Infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 5427-5428.
- Huang, H., Yu, W., Huan, K., Cheng, K., e Chuang, Y. (2007). *Aeromonas sobria* prostatitis and septic shock in a healthy man with chronic alcoholic consumption. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 60(6), 400-401.
- Huang, L., Chen, H., Chen, T., Siu, L. K., Fung, C., Lee, F., e Liu, C. (2006). Secondary *Aeromonas* peritonitis is associated with polymicrobial ascites culture and absence of liver cirrhosis compared to primary *Aeromonas* peritonitis. *APMIS*, 114(11), 772-778.
- Huys, G., Vancanneyt, M., Coopman, R., Janssen, P., Falsen, E., Altwegg, M., e Kersters, K. (1994). Cellular Fatty Acid Composition as a Chemotaxonomic Marker for the Differentiation of Phenospecies and Hybridization Groups in the Genus *Aeromonas*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(4), 651-658.
- Igbinosa, I. H., Igumbor, E. U., Aghdasi, F., Tom, M., e Okoh, A. I. (2012). Emerging *Aeromonas* species infections and their significance in public health. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-13.
- Imamura, T., Nitta, H., Wada, Y., Kobayashi, H., e Okamoto, K. (2008). Impaired plasma clottability induction through fibrinogen degradation by ASP, a serine protease released from *Aeromonas sobria*. *FEMS Microbiol Lett.*, 284(1), 35-42.
- Inouye, M., Conway, T. C., Zobel, J., e Holt, K. E. (2012). Short read sequence typing (SRST): multi-locus sequence types from short reads. *BMC Genomics*, 13, 1-7.
- Isonhood, J. H., e Drake, M. (2002). *Aeromonas* species in foods. *J Food Prot.*, 65(3), 575-582.
- Jackson, L. C., Reyes, L. A. M., e Cordiés, M. L. H. (1998). Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Medica*, 8(1), 13-27.
- Janda, J. M. (1991). Recent advances in the study of the taxonomy, pathogenicity, and infectious syndromes associated with the genus *Aeromonas*. *Clinical Microbiology Reviews*, 4(4), 397-410.
- Janda, J. M., e Abbott, S. L. (1998). Evolving Concepts Regarding the Genus *Aeromonas*: An Expanding Panorama of Species, Disease Presentations, and Unanswered Questions. *Clinical Infectious Diseases*, 27(2), 332-344.
- Janda, J. M., e Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761-2764.
- Janda, J. M., e Abbott, S. L. (2010). The genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clin Microbiol Rev*, 23(1), 35-73.

- John, N., e Hatha, A. A. M. (2013). Distribution, Extracellular Virulence Factors and Drug Resistance of Motile Aeromonads in Fresh Water Ornamental Fishes and Associated Carriage Water. *International Journal of Aquaculture*, 3(17), 92-100.
- Joseph, S. W., e Carnahan, A. M. (2000). Update on the Genus *Aeromonas*. *ASM News*, 66(4), 218-223.
- Kalina, G. P. (1976). *Aeromonady* - taksonomiya i nomenklatura. [Aeromonas - taxonomy and nomenclature]. *Zhurnal mikrobiologii, epidimiologii i immunobiologii*, V/I:12, 15-22.
- Kandakai-Olukemi, Y. T., Mawak, J. D., Olukemi, M. A., e Ojumah, S. O. (2007). *Aeromonas* - related diarrhoea in Nasarawa, Nigeria. *Ann Afr Med*, 6(2), 76-79.
- Kannan, S., Chattopadhyay, U. K., Pal, D., Shimada, T., Takeda, Y., Bhattacharya, S. K., e Ananthanarayanan, P. H. (2001). Isolation and identification of *Aeromonas* from patients with acute diarrhoea in Kolkata, India. *Indian J Med Microbiol* 19(4), 190-192.
- Karem, K. L., Foster, J. W., e Bej, A. K. (1994). Adaptive acid tolerance response (ATR) in *Aeromonas hydrophila*. *Microbiology*, 140(7), 1731-1736.
- Kaznowski, A., e Konecka, E. (2005). Identification of *Aeromonas culicicola* by 16S rDNA RFLP. *Polish journal of microbiology*, 54(4), 335-338.
- Kelleher, A., e Kirov, S. M. (2000). *Rattus norvegicus*: not a model for *Aeromonas* - associated gastroenteritis in man. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 28(4), 313-318.
- Kelly, K. A., Koehler, J. M., e Ashdown, L. R. (1993). Spectrum of Extraintestinal Disease Due to *Aeromonas* Species in Tropical Queensland, Australia. *Clinical Infectious Diseases*, 16(4), 574-579.
- Khajanchi, B. K., Fadl, A. A., Borchardt, M. A., Berg, R. L., Horneman, A. J., Stemper, M. E., . . . Chopra, A. K. (2010). Distribution of Virulence Factors and Molecular Fingerprinting of *Aeromonas* Species Isolates from Water and Clinical Samples: Suggestive Evidence of Water-to-Human Transmission. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(7), 2313-2325.
- Khan, M. I., Walters, G., e Metcalfe, T. (2007). Bilateral endogenous endophthalmitis caused by *Aeromonas hydrophila*. *Eye*, 21(9), 1244-1245. doi:10.1038/sj.eye.6702926
- Khushiramani, R., Girisha, S. K., Karunasagar, I., e Karunasagar, I. (2009). Evaluation of a digoxigenin-labelled probe for detection of *Aeromonas* spp. *Letters in Applied Microbiology*, 48(3), 383-385.
- Kienzle, N., Muller, M., e Pegg, S. (2000). *Aeromonas* wound infection in burns. *Burns*, 26(5), 478-482.
- Kim, B. N., Chung, H., e Shim, T. S. (2001). A Case of Spontaneous Bacterial Empyema and Bacteremia Caused by *Aeromonas hydrophila*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 20(3), 214-215.
- Kimura, M., Araoka, H., e Yoneyama, A. (2013). *Aeromonas caviae* is the most frequent pathogen amongst cases of *Aeromonas* bacteremia in Japan. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 45(4), 304-309.
- King, G. E., Werner, S. B., e Kizer, K. W. (1992). Epidemiology of *Aeromonas* Infections in California. *Clinical Infectious Diseases*, 15(3), 449-452. doi: 10.1093/clind/15.3.449
- Kingombe, C. I. B., D'Aoust, J., Huys, G., Hofmann, L., Rao, M., e Kwan, J. (2010). Multiplex PCR Method for Detection of Three *Aeromonas* Enterotoxin Genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(2), 425-433.



- Kirov, S. M., Barnett, T. C., Pepe, C. M., Strom, M. S., e Albert, M. J. (2000). Investigation of the Role of Type IV *Aeromonas* Pilus (Tap) in the Pathogenesis of *Aeromonas* Gastrointestinal Infection. *Infection and Immunity*, 68(7), 4040-4048.
- Kirov, S. M., Jacobs, I., Hayward, L. J., e Hapin, R. H. (1995). Electron microscopic examination of factors influencing the expression of filamentous surface structures on clinical and environmental isolates of *Aeromonas veronii* Biotype *sobria*. *Microbiology and immunology*, 39(5), 329-338.
- Kirov, S. M., O'Donovan, L. A., e Sanderson, K. (1999). Functional Characterization of Type IV Pili Expressed on Diarrhea - Associated Isolates of *Aeromonas* species. *Infection and Immunity*, 67(10), 5447-5454.
- Kirov, S. M., Tassell, B. C., Semmler, A. B. T., O'Donovan, L. A., Rabaan, A. A., e Shaw, J. G. (2002). Lateral Flagella and Swarming Motility in *Aeromonas* Species. *Journal of Bacteriology*, 184(2), 547-555.
- Kline, K. A., Fälker, S., Dahlberg, S., Normark, S., e Henriques-Normark, B. (2009). Bacterial Adhesins in Host-Microbe Interactions. *Cell host & microbe*, 5(6), 580-592.
- Koehler, J. M., e Ashdown, L. R. (1993). Comparison of transport media for recovery of *Aeromonas* from clinical specimens. *Letters in Applied Microbiology*, 16(2), 91-93.
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., e Collins, J. J. (2010). How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol*, 8(6), 423-435.
- Koth, K., Boniface, J., Chance, E. A., e Hanes, M. C. (2012). *Enterobacter asburiae* and *Aeromonas hydrophila*: Soft Tissue Infection Requiring Debridement. *Orthopedics*, 35(6), e996-e999.
- Kozińska, A., e Pękala, A. (2012). Characteristics of Disease Spectrum in relation to Species, Serogroups, and Adhesion Ability of Motile *Aeromonads* in Fish. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-9.
- Krzywińska, S., Mokracka, J., Koczura, R., Ćwiertnia, A., e Kaznowski, A. (2012). *Aeromonas* spp. - mediated cell - contact cytotoxicity is associated with the presence of type III secretion system. *Antonie van Leeuwenhoek*, 101(2), 243-251.
- Küpfer, M., Kuhnert, P., Korczak, B. M., Peduzzi, R., e Demarta, A. (2006). Genetic relationships of *Aeromonas* strains inferred from 16S rRNA, gyrB and rpoB gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(12), 2743-2751.
- Kumar, S., Mukhopadhyay, P., Chatterjee, M., Bandyopadhyay, M. K., Bandyopadhyay, M., Ghosh, T., e Samaddar, D. (2012). Necrotizing fasciitis caused by *Aeromonas caviae*. *Avicenna J Med*, 2(4), 94-96.
- Kunimoto, D., Rennie, R., Citron, D. M., e Goldstein, E. J. C. (2004). Bacteriology of a Bear Bite Wound to a Human: Case Report. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(7), 3374-3376.
- Lab M. (2005). *Aeromonas* Agar. Acedido em 23 de setembro 2013, disponível em <http://www.labm.com/products/aeromonas-agar/>
- Łaganowska, M., e Kaznowski, A. (2005). Polymorphism of *Aeromonas* spp. tRNA intergenic spacers. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(3), 222-229.
- Lai, C., Shiao, C., Lu, G., e Ding, L. (2007). *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* bacteremia: Rare pathogens of infection in a burn patient. *Burns*, 33(2), 255-257.

- Lamps, L.W. (2010). *Aeromonas*, *Vibrio cholerae*, and related bacteria. In Autor (Ed.), *Surgical pathology of the gastrointestinal system: bacterial, fungal, viral, and parasitic infections* (1 ed., pp. 9-12). Nova Iorque, EUA: Springer.
- Lamy, B., Kodjo, A., Group the colBVH Study, e Laurent, F. (2009). Prospective Nationwide Study of *Aeromonas* Infections in France. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(4), 1234-1237.
- Lamy, B., Kodjo, A., Laurent, F., e Group the colBVH Study. (2011). Identification of *Aeromonas* isolates by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 71(1), 1-5.
- Lamy, B., Laurent, F., Verdier, I., Decousser, J., Lecaillon, E., Marchandin, H., . . . Kodjo, A. (2010). Accuracy of 6 commercial systems for identifying clinical *Aeromonas* isolates. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 67(1), 9-14.
- Lautrop, H. (1961). *Aeromonas hydrophila* isolated from human faeces and its possible pathological significance. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*, 51, 299-301.
- Lee, V. T., e Schneewind, O. (2001). Protein secretion and the pathogenesis of bacterial infections. *Genes & Development*, 15(14), 1725-1752.
- Leekha, S., Terrell, C. L., e Edson, R. S. (2011). General Principles of Antimicrobial Therapy. *Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic*, 86(2), 156-167.
- Levine, S. M., Frangos, S. G., Hanna, B., Colen, K., e Levine, J. P. (2010). *Aeromonas* Septicemia After Medicinal Leech Use Following Replantation of Severed Digits. *American Journal of Critical Care*, 19(5), 471-470.
- Liakopoulos, V., Arampatzis, S., Kourti, P., Tsolkas, T., Zarogiannis, S., Eleftheriadis, T., . . . Stefanidis, I. (2011). *Aeromonas hydrophila* as a causative organism in peritoneal dialysis-related peritonitis: case report and review of the literature. *Clinical Nephrology*, 75(Suppl. 1), 65-68.
- Liao, K., Yen, P., e Liu, C. (2010). Necrotizing Fasciitis Caused by Inconspicuous Infection of *Aeromonas hydrophila* in an Immunocompromised Host. *Journal of Surgical Case Reports*, 2010(7), 2.
- Libisch, B., Giske, C. G., Kovács, B., Tóth, T. G., e Füzi, M. (2008). Identification of the First VIM Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing Multiresistant *Aeromonas hydrophila* Strain. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(5), 1878-1880.
- Likitarunrat, S. (2008). Necrotizing Fasciitis and Myonecrosis of Both Legs due to *Aeromonas*: Two-Case Report. *Thai Journal of Surgery*, 29(1), 11-15.
- Lin, Y. (2006). Segmental ascending colitis associated with *Aeromonas veronii* biovar *sobria*. *Pediatrics International*, 48(3), 334-336.
- Liu, C., Huang, Y., Liao, C., e Hsueh, P. (2008). *In Vitro* Activities of Tigecycline against Clinical Isolates of *Aeromonas*, *Vibrio*, and *Salmonella* Species in Taiwan. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(7), 2677-2679.
- Longa-Briceño, A., Peña-Contreras, Z., Dávila-Vera, D., Mendoza-Briceño, R. V., e Palacios-Prü, E. (2006). Effects of *Aeromonas caviae* co-cultured in mouse small intestine. *Interciencia*, 31(6), 446-450.
- MacInnes, J. I., Trust, T. J., e Crosa, J. H. (1979). Deoxyribonucleic acid relationships among members of the genus *Aeromonas*. *Can J Microbiol.*, 25(5), 579-586.
- Mandal, J., Dhodapkar, R., Acharya, N. S., Sastry, A., e Parija, S. C. (2010). Urinary tract infection due to *Aeromonas* spp., a lesser known causative bacterium. *J Infect Dev Ctries*, 4(10), 679-681.
- Manresa, M. J., Villa, A. V., Giralt, A. G., e González-Enseñat, M. A. (2009). *Aeromonas hydrophila* Folliculitis Associated with an Inflatable Swimming

- Pool: Mimicking *Pseudomonas aeruginosa* Infection. *Pediatric Dermatology*, 26(5), 601-603.
- Martin-Carnahan, A., e Joseph, S. W. (2005). Family I. *Aeromonadaceae* Colwell, MacDonell and De Ley 1986, 474<sup>VP</sup>. In D. J. Brenner, N. R. Krieg, J. T. Staley, G. M. Garrity, D. R. Boone, P. Vos, M. Goodfellow, F. A. Rainey e K. Schleifer (Eds.), *Bergey's manual® of systematic bacteriology* (2 ed., Vol. 2 The *Proteobacteria* Part B, The *Gammaproteobacteria*, pp. 556-587). Nova Iorque, EUA: Springer.
- Martin, G. S. (2012). Sepsis, severe sepsis and septic shock: changes in incidence, pathogens and outcomes. *Expert Rev Anti Infect Ther.*, 10(6), 701-706.
- Martínez-Murcia, A., Beaz-Hidalgo, R., Svec, P., Saavedra, M. J., Figueras, M. J., e Sedlacek, I. (2013). *Aeromonas cavernicola* sp. nov., isolated from fresh water of a brook in a cavern. *Current Microbiology*, 66(2), 197-204.
- Martinez-Murcia, A. J., Benlloch, S., e Collins, M. D. (1992). Phylogenetic Interrelationships of Members of the Genera *Aeromonas* and *Plesiomonas* as Determined by 16S Ribosomal DNA Sequencing: Lack of Congruence with Results of DNA-DNA Hybridizations. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 42(3), 412-421.
- Martinez-Murcia, A. J., Monera, A., Saavedra, M. J., Oncina, R., Lopez-Alvarez, M., Lara, E., e Figueras, M. J. (2011). Multilocus phylogenetic analysis of the genus *Aeromonas*. *Systematic and Applied Microbiology*, 34(3), 189-199.
- Martino, M. E., Fasolato, L., Montemurro, F., Rosteghin, M., Manfrin, A., Patarnello, T., . . . Cardazzo, B. (2011). Determination of Microbial Diversity of *Aeromonas* Strains on the Basis of Multilocus Sequence Typing, Phenotype, and Presence of Putative Virulence Genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(14), 4986-5000.
- Mayer, C. L., Leibowitz, C. S., Kurosawa, S., e Stearns-Kurosawa, D. J. (2012). Shiga Toxins and the Pathophysiology of Hemolytic Uremic Syndrome in Humans and Animals. *Toxins*, 4(11), 1261-1287.
- Mendes-Marques, C. L., Hofer, E., e Leal, N. C. (2013). Development of duplex-PCR for identification of *Aeromonas* species. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 46(3), 355-357.
- Merino, S., Rubires, X., Knøchel, S., e Tomás, J. M. (1995). Emerging pathogens: *Aeromonas* spp. *International Journal of Food Microbiology*, 28(2), 157-168.
- Merino, S., e Tomás, J. M. (2001). Bacterial capsules and evasion of immune responses. In *eLS* (3 ed.). Chichester, Reino Unido: John Wiley & Sons, Ltd.
- Miethke, M., e Marahiel, M. A. (2007). Siderophore - Based Iron Acquisition and Pathogen Control. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 71(3), 413-451.
- Miñana-Galbis, D., Urbizu-Serrano, A., Farfán, M., Fusté, M. C., e Lorén, J. G. (2009). Phylogenetic analysis and identification of *Aeromonas* species based on sequencing of the cpn60 universal target. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(8), 1976-1983.
- Ministério da Saúde Italiano, decreto de 8 de Julho de 1997. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana, serie generale, nº 170, 23 de julho de 1997, Roma, Itália.
- Moal, V. L., e Servin, A. L. (2006). The Front Line of Enteric Host Defense against Unwelcome Intrusion of Harmful Microorganisms: Mucins, Antimicrobial Peptides, and Microbiota. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(2), 315-337.
- Morinaga, Y., Yanagihara, K., Araki, N., Harada, Y., Yamada, K., Akamatsu, N., . . . Kamihira, S. (2011). Clinical Characteristics of Seven Patients with *Aeromonas*

- Septicemia in a Japanese Hospital. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 225(2), 81-84.
- Morris, J. G., e Horneman, A. . (2013, 5 de junho de 2013). *Aeromonas* infections. Acedido em 3 de julho 2013, disponível em <http://www.uptodate.com/contents/aeromonas-infections>
- Mosler, P. (2011). Management of Acute Cholangitis. *Gastroenterology & Hepatology*, 7(2), 121-123.
- Nagar, V., e Bandekar, J. R. (2011). Effectiveness of radiation processing in elimination of *Aeromonas* from food. *Radiation Physics and Chemistry*, 80(8), 911-916.
- Nagata, K. , Takeshima, Y. , Tomii, K. , e Imai, Y. (2011). Fulminant fatal bacteremic pneumonia due to *Aeromonas hydrophila* in a non-immunocompromised woman. *Intern. Med.*, 50(1), 63-65.
- Naharro, G., Rubio, P., e Luengo, J. M. (2011). *Aeromonas*. In D. Liu (Ed.), *Molecular detection of human bacterial pathogens* (1 ed., pp. 789-799). Boca Raton, EUA: CRC Press.
- Najimi, M. (2012). Characterization of the siderophore transport protein AsbJ in *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. *Comparative Clinical Pathology*, 21(2), 217-221.
- Najimi, M., Lemos, M. L., e Osorio, C. R. (2008). Identification of Siderophore Biosynthesis Genes Essential for Growth of *Aeromonas salmonicida* under Iron Limitation Conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(8), 2341-2348.
- Nam, I., e Joh, K. (2007). Rapid Detection of Virulence Factors of *Aeromonas* Isolated from a Trout Farm by Hexaplex-PCR. *Journal of Microbiology*, 45(4), 297-304.
- Natrah, F. M. I., Alam, M. I., Pawar, S., Harzevili, A. S., Nevejan, N., Boon, N., . . . Defoirdt, T. (2012). The impact of quorum sensing on the virulence of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas salmonicida* towards burbot (*Lota lota* L.) larvae. *Veterinary Microbiology*, 159(1-2), 77-82.
- Niemann, H. H., Schubert, W., e Heinz, D. W. (2004). Adhesins and invasins of pathogenic bacteria: a structural view. *Microbes and Infection*, 6(1), 101-112.
- Nitta, H., Kobayashi, H., Irie, A., Baba, H., Okamoto, K., e Imamura, T. (2007). Activation of prothrombin by ASP, a serine protease released from *Aeromonas sobria*. *FEBS Letters*, 581(30), 5935-5939.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., e Hase, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12), e63.
- Obi, C. L., Ramalivhana, J., Samie, A., e Igumbor, E. O. (2007). Prevalence, Pathogenesis, Antibiotic Susceptibility Profiles, and *In-vitro* Activity of Selected Medicinal Plants Against *Aeromonas* Isolates from Stool Samples of Patients in the Venda Region of South Africa. *J. Health Popul. Nutr.*, 25(4), 428-435.
- Okumura, K., Shoji, F., Yoshida, M., Mizuta, A., Makino, I., e Higashi, H. (2011). Severe sepsis caused by *Aeromonas hydrophila* in a patient using tocilizumab: a case report. *Journal of Medical Case Reports*, 5, 1-3.
- Onuk, E. E., Findik, A., Turk, N., Altun, S., Korun, J., Ozer, S., . . . Ciftci, A. (2013). Molecular identification and determination of some virulence genes of *Aeromonas* spp. in fish and water from Turkish coastal regions. *Revue Médecine Vétérinaire*, 4(164), 200-2006.
- Orsini, J., e Sakoulas, G. (2007). Surgical Site Infection Complicating Leech Therapy. *The Internet Journal of Plastic Surgery*, 3(1). doi:10.5580/ae0

- Ottaviani, D., Parlani, C., Citterio, B., Masini, L., Leoni, F., Canonico, C., . . . Pianetti, A. (2011). Putative virulence properties of *Aeromonas* strains isolated from food, environmental and clinical sources in Italy: A comparative study. *International Journal of Food Microbiology*, 144(3), 538-545.
- Ouderkirk, J. P., Bekhor, D., Turett, G. S., e Murali, R. (2004). *Aeromonas* Meningitis Complicating Medicinal Leech Therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 38(4), e36-e37.
- Oxoid Ltd. (2001, 2013). Dehydrated Culture Media - Cary-Blair Medium CM0519. Acedido em 26 de outubro 2013, disponível em [http://www.oxoid.com/UK/blue/prod\\_detail/prod\\_detail.asp?pr=CM0519](http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0519)
- Pablos, M., Huys, G., Cnockaert, M., Rodríguez-Calleja, J. M., Otero, A., Santos, J. A., e García-López, M. L. (2011). Identification and epidemiological relationships of *Aeromonas* isolates from patients with diarrhea, drinking water and foods. *International Journal of Food Microbiology*, 147(3), 203-210.
- Page, M. J., e Cera, E. D. (2008). Serine peptidases: Classification, structure and function. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65(7-8), 1220-1236.
- Palumbo, S. A., Williams, A. C. , Buchanan, R. L., e Phillips, J. G. (1991). Model for the anaerobic growth of *Aeromonas hydrophila* K144. *Journal of food protection*, 54(6), 429-435.
- Pampín, F., Bou, G., Galeiras, R., Freire, D., Bouza, M. T., e Zúñiga, M. C. (2012). *Aeromonas* y meningitis: una presentación infrecuente. *Neurocirugía*, 23(5), 200-202.
- Pandey, A., Naik, M., e Dubey, S. K. (2010). Hemolysin, Protease, and EPS Producing Pathogenic *Aeromonas hydrophila* Strain An4 Shows Antibacterial Activity against Marine Bacterial Fish Pathogens. *Journal of Marine Biology*, 2010, 1-9. doi: 10.1155/2010/563205
- Papadakis, V., Poniros, N., Katsibardi, K., Charissiadou, A., Anastasopoulos, J., e Polychronopoulou, S. (2012). Fulminant *Aeromonas hydrophila* infection during acute lymphoblastic leukemia treatment. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 45(2), 154-157.
- Park, T. S., Oh, S. H., Lee, E. Y., Lee, T. K., Park, K. H., Figueras, M. J., e Chang, C. L. (2003). Misidentification of *Aeromonas veronii* biovar *sobria* as *Vibrio alginolyticus* by the Vitek system. *Letters in Applied Microbiology*, 37(4), 349-353.
- Parker, J. L., e Shaw, J. G. (2011). *Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease. *Journal of Infection*, 62(2), 109-118.
- Patel, K. M., Svestka, M., Sinkin, J., e Ruff IV, P. (2013). Ciprofloxacin-resistant *Aeromonas hydrophila* infection following leech therapy: A case report and review of the literature. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, 66(1), e20-e22.
- Pavan, M. E., Abbott, S. L., Zorzópulos, J., e Janda, J. M. (2000). *Aeromonas salmonicida* subsp. *pectinolytica* subsp. nov., a new pectinase-positive subspecies isolated from a heavily polluted river. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50(3), 1119-1124.
- Pemberton, J. M., Kidd, S. P., e Schmidt, R. (1997). Secreted enzymes of *Aeromonas*. *FEMS Microbiology Letters*, 152(1), 1-10.
- Perales, I. (2003). Culture media for *Aeromonas* spp. and *Plesiomonas shigelloides*. In J. E. L. Corry, G. D. W. Curtis e R. M. Baird (Eds.), *Handbook of culture media for food microbiology - progress in industrial microbiology* (2 ed., Vol. 37, pp. 317-344). Amesterdão, Holanda: Elsevier.

- Pérez, J. J. B., Novoa, M. T., e Vidal, I. P. (2005). Lung Abscess Caused by *Aeromonas hydrophila*. *Archivos de Bronconeumología (English Version)*, 41(07), 404-404.
- Peterson, J. W. (1996). Bacterial pathogenesis. In S. Baron (Ed.), *Bacterial pathogenesis* (4 ed.). Galveston (TX), EUA: University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Pinna, A., Sechi, L. A., Zanetti, S., Usai, D., e Carta, F. (2004). *Aeromonas caviae* keratitis associated with contact lens wear. *Ophthalmology*, 111(2), 348-351.
- Popoff, M. Y., Coynault, C., Kiredjian, M., e Lemelin, M. (1981). Polynucleotide sequence relatedness among motile *Aeromonas* species. *Current Microbiology*, 5(2), 109-114.
- Prediger, K. C., Pereira, R. S., Neto, C. H. D. P. W., Santos, R. C. V., Fadel-Picheth, C. M. T., e Vizzotto, B. S. (2012). A prospective study on *Aeromonas* in outpatients with diarrhea in the central region of Rio Grande do Sul State. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(3), 966-968.
- Proft, T., e Baker, E. N. (2009). Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria — structure, assembly and their role in disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(4), 613-635.
- Puah, S. , Puthuchear, S. D., Liew, F., e Chua, K. (2013). *Aeromonas aquariorum* clinical isolates: antimicrobial profiles, plasmids and genetic determinants. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 41(3), 281-284.
- Pum, D., Toca-Herrera, J. L., e Sleytr, U. B. (2013). S-Layer Protein Self-Assembly. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2), 2484-2501.
- Puri, P., Bansal, V., Dinakaran, S., e Kayarkar, V. V. (2003). *Aeromonas sobria* corneal ulcer. *Eye*, 17(1), 104-105.
- Puthuchear, S. D., Puah, S. M., e Chua, K. H. (2012). Molecular Characterization of Clinical Isolates of *Aeromonas* Species from Malaysia. *PLoS ONE*, 7(2), e30205.
- Quiroga, M., e Vergara, M. (2011). Behaviour against  $\beta$ -lactams in *Aeromonas* spp. isolated from extraintestinal infections In A. Méndez-Vilas (Ed.), *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances* (3 ed., Vol. 1, pp. 440-443). Badajoz, Espanha: Formatex Research Center.
- Ragunathan, L., Kavitha, K., Raveendran, V., Dhandapani, S. P., Jaget, N., e Kannivelu, J. (2012). *Aeromonas hydrophila* urinary tract infection in pregnancy - Case report and literature review. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 2(1), 26-28.
- Randive, A. D. M., e Mathur, M. (2012). *Aeromonas caviae* infection in a female with multiple choledocholithiasis. *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences*, 2(2), 237-239.
- Reis, R. S., e Horn, F. (2010). Enteropathogenic *Escherichia coli*, *Samonella*, *Shigella* and *Yersinia*: cellular aspects of host-bacteria interactions in enteric diseases. *Gut Pathogens*, 2(8), 1-12.
- Ribeiro, N. F. F., Heath, C. H., Kierath, J., Rea, S., Duncan-Smith, M., e Wood, F. M. (2010). Burn wounds infected by contaminated water: Case reports, review of the literature and recommendations for treatment. *Burns*, 36(1), 9-22.
- Rocha, M. P., Scheid, L. A., e Alves, S. H. (2008). New selective indicator medium for detection of *Aeromonas* and *Plesiomonas*: UNISC agar. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41(4), 431-433.

- Roger, F., Marchandin, H., Jumas-Bilak, E., Kodjo, A., Group the colBVH study, e Lamy, B. (2012). Multilocus genetics to reconstruct aeromonad evolution. *BMC Microbiology*, 12, 1-23.
- Saavedra, M. J. (2012). Antibiotic Resistance of the Genus *Aeromonas* spp. *J Aquac Res Development*, 3(2), 1000e1101.
- Saavedra, M. J., Figueras, M. J., e Martínez-Murcia, A. J. (2006). Updated phylogeny of the genus *Aeromonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56(10), 2481-2487.
- Sahin, I., e Barut, H. S. (2010). Quinolone-resistant *Aeromonas hydrophila* peritonitis in a CAPD patient. *Clinical Nephrology*, 73(3), 241-243.
- Saidi, N., Snoussi, M., Usai, D., Zanetti, S., e Bakhrouf, A. (2011). Adhesive properties of *Aeromonas hydrophila* strains isolated from Tunisian aquatic biotopes. *African Journal of Microbiology Research* 5(31), 5644-5655.
- Sánchez-Céspedes, J., Figueras, M. J., Aspiroz, C., Aldea, M. J., Toledo, M., Alperí, A., . . . Vila, J. (2009). Development of imipenem resistance in an *Aeromonas veronii* biovar *sobria* clinical isolate recovered from a patient with cholangitis. *Journal of Medical Microbiology*, 58(4), 451-455.
- Santos, P. G., Santos, P. A., Bello, A. R., e Freitas-Almeida, A. C. (2011). Association of *Aeromonas caviae* polar and lateral flagella with biofilm formation. *Letters in Applied Microbiology*, 52(1), 49-55.
- Sartor, C., Bornet, C., Guinard, D., e Fournier, P. (2013). Transmission of *Aeromonas hydrophila* by leeches. *The Lancet*, 381(9878), 1686.
- Schalk, I. J., Hannauer, M., e Braud, A. (2011). New roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance. *Environmental Microbiology*, 13(11), 2844-2854.
- Senderovich, Y., Ken-Dror, S., Vainblat, I., Blau, D., Izhaki, I., e Halpern, M. (2012). A Molecular Study on the Prevalence and Virulence Potential of *Aeromonas* spp. Recovered from Patients Suffering from Diarrhea in Israel. *PLoS ONE*, 7(2), e30070.
- Seshadri, R., Joseph, S.W., Chopra, A. K., Sha, J., Shaw, J. , Graf, J., . . . Heidelberg, J. F. (2006). Genome Sequence of *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966T: Jack of All Trades. *Journal of Bacteriology*, 188(23), 8272-8282.
- Sha, J., Kozlova, E. V., e Chopra, A. K. (2002). Role of Various Enterotoxins in *Aeromonas hydrophila* - Induced Gastroenteritis: Generation of Enterotoxin Gene-Deficient Mutants and Evaluation of Their Enterotoxic Activity. *Infection and Immunity*, 70(4), 1924-1935.
- Shak, J. R., Whitaker, J. A., Ribner, B. S., e Burd, E. M. (2011). Aminoglycoside-Resistant *Aeromonas hydrophila* as Part of a Polymicrobial Infection following a Traumatic Fall into Freshwater. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(3), 1169-1170.
- Sharma, I., Kumar, A., e Pramanik, A. K. (2009). Review of Techniques on Isolation and Identification of Aeromonads from the Food of Animal and Fish Origin. *Assam University Journal of Science & Technology: Biological Sciences*, 4(1), 73-85.
- Sharma, S. (2012). Diagnosis of infectious diseases of the eye. *Eye*, 26(2), 177-184.
- Sheerin, N. S. (2011). Urinary tract infection. *Medicine*, 39(7), 384-389.
- Sherry, N. L., Padiglione, A. A., Spelman, D. W., e Cleland, H. (2013). Microbiology of wildfire victims differs significantly from routine burns patients: Data from an Australian wildfire disaster. *Burns*, 39(2), 331-334.
- Sierra, J. C., Suarez, G., Sha, J., Foltz, S. M., Popov, V. L., Galindo, C. L., . . . Chopra, A. K. (2007). Biological characterization of a new type III secretion system

- effector from a clinical isolate of *Aeromonas hydrophila* - Part II. *Microbial Pathogenesis*, 43(4), 147-160.
- Sifri, C. D. (2008). Quorum Sensing: Bacteria Talk Sense. *Clinical Infectious Diseases*, 47(8), 1070-1076.
- Silver, A. C., Rabinowitz, N. M., Küffer, S., e Graf, J. (2007). Identification of *Aeromonas veronii* Genes Required for Colonization of the Medicinal Leech, *Hirudo verbana*. *Journal of Bacteriology*, 189(19), 6763-6772.
- Singh, V., Chaudhary, D. K., e Mani, I. (2012). Gene network analysis of *Aeromonas hydrophila* for novel drug target discovery. *Systems and Synthetic Biology*, 6(1-2), 23-30.
- Sirisha, E., Rajasekar, N., e Narasu, M. L. (2010). Isolation and Optimization of Lipase Producing Bacteria from Oil Contaminated Soils. *Advances in Biological Research*, 4(5), 249-252.
- Snieszko, S. F. (1957). Genus IV. *Aeromonas* Kluyver and van Niel, 1936. In R. S. Breed, E. G. D. Murray e N. R. Smith (Eds.), *Bergey's manual of determinative bacteriology* (7 ed., pp. 189-193). Baltimore, EUA: Williams & Wilkins Company.
- Soler, L., Marco, F., Vila, J., Chacón, M. R., Guarro, J., e Figueras, M. J. (2003). Evaluation of Two Miniaturized Systems, MicroScan W/A and BBL Crystal E/NF, for Identification of Clinical Isolates of *Aeromonas* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(12), 5732-5734.
- Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G. M., Grimont, P. A. D., Kämpfer, P., Maiden, M. C. J., . . . Whitman, W. B. (2002). Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(3), 1043-1047.
- Stratev, D., Vashin, I., e Rusev, V. (2012). Prevalence and survival of *Aeromonas* spp. in foods - a review. *Revue Médecine Vétérinaire*, 10(163), 486-494.
- Su, S., Lin, W., e Chao, C. (2013). Is it really *Aeromonas hydrophila*? *Infection*, 41(1), 279.
- Suarez, G., Sierra, J. C., Erova, T. E., Sha, J., Horneman, A. J., e Chopra, A. K. (2010). A Type VI Secretion System Effector Protein, VgrG1, from *Aeromonas hydrophila* That Induces Host Cell Toxicity by ADP Ribosylation of Actin. *Journal of Bacteriology*, 192(1), 155-168.
- Suarez, G., Sierra, J. C., Sha, J., Wang, S., Erova, T. E., Fadl, A. A., . . . Chopra, A. K. (2008). Molecular characterization of a functional type VI secretion system from a clinical isolate of *Aeromonas hydrophila*. *Microbial Pathogenesis*, 44(4), 344-361.
- Subashkumar, R., Vivekanandhan, G., Raja, S. S., Natarajaseenivasan, K., Thayumanavan, T., e Lakshmanaperumalsamy, P. (2007). Typing of *Aeromonas hydrophila* of fish and human diarrhoeal origin by outer membrane proteins and lipopolysaccharides. *Indian Journal of Microbiology*, 47(1), 46-50.
- Sule, A. A., Tai, D. Y. H., Boey, R., e Tay, J. C. (2008). Case Reports: *Aeromonas hydrophila* Severe Gastroenteritis in Diabetic, Elderly Patients. *Crit. Care & Shock*, 11(2), 67-70.
- Swift, S., Karlyshev, A. V., Fish, L., Durant, E. L., Winson, M. K., Chhabra, S. R., . . . Stewart, G. S. (1997). Quorum sensing in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas salmonicida*: identification of the LuxRI homologs AhyRI and AsaRI and their cognate N-acylhomoserine lactone signal molecules. *Journal of Bacteriology*, 179(17), 5271-5281.



- Tadié, J. M., Heming, N., Serve, E., Weiss, N., Day, N., Imbert, A., . . . Guérot, E. (2012). Drowning associated pneumonia: A descriptive cohort. *Resuscitation*, 83(3), 399-401.
- Tena, D., Aspíroz, C., Figueras, M. J., González-Praetorius, A., Aldea, M. J., Alperí, A., e Bisquert, J. (2009). Surgical site infection due to *Aeromonas* species: Report of nine cases and literature review. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 41(3), 164-170.
- Tennant, S. M., Hartland, E. L., Phumoonna, T., Lyras, D., Rood, J. I., Robins-Browne, R. M., e van Driel, I. R. (2008). Influence of Gastric Acid on Susceptibility to Infection with Ingested Bacterial Pathogens. *Infection and Immunity*, 76(2), 639-645.
- Thelestam, M., e Ljungh, A. (1981). Membrane-damaging and cytotoxic effects on human fibroblasts of alpha- and beta-hemolysins from *Aeromonas hydrophila*. *Infection and Immunity*, 34(3), 949-956.
- Thomas, S. R., e Elkinton, J. S. (2004). Pathogenicity and virulence. *Journal of Invertebrate Pathology*, 85(3), 146-151.
- Tomás, J. M. (2012). The Main *Aeromonas* Pathogenic Factors. *ISRN Microbiology*, 2012, 1-22.
- Tsai, M. S., Kuo, C. Y., Wang, M. C., Wu, H. C., Chien, C. C., e Liu, J. W. (2006). Clinical features and risk factors for mortality in *Aeromonas* bacteremic adults with hematologic malignancies. *J Microbiol Immunol Infect.*, 39(2), 150-154.
- Tsai, T., Yeh, T., Wang, C., Liu, W., e Chao, C. (2013). *Aeromonas* Associated Acute Appendicitis. *J Emerg Crit Care Med.*, 24(1), 24-27.
- Tseng, T., Tyler, B., e Setubal, J. (2009). Protein secretion systems in bacterial-host associations, and their description in the Gene Ontology. *BMC Microbiology*, 9(Supl. 1), S2.
- Turner, P., Willemse, C., Phakaudom, K., Zin, T. W., Nosten, F., e McGready, R. (2012). *Aeromonas* spp. bacteremia in pregnant women, Thailand–Myanmar border, 2011. *Emerging Infectious Diseases*, 18(9), 1522-1523.
- Turska-Szewczuk, A., Lindner, B., Komaniecka, I., Kozinska, A., Pekala, A., Choma, A., e Holst, O. (2013). Structural and Immunochemical Studies of the Lipopolysaccharide from the Fish Pathogen, *Aeromonas bestiarum* Strain K296, Serotype O18. *Marine Drugs*, 11(4), 1235-1255.
- Uyttendaele, M., Neyts, K., Vanderswalmen, H., Notebaert, E., e Debevere, J. (2004). Control of *Aeromonas* on minimally processed vegetables by decontamination with lactic acid, chlorinated water, or thyme essential oil solution. *International Journal of Food Microbiology*, 90(3), 263-271.
- Valério, E., Chaves, S., e Tenreiro, R. (2010). Diversity and Impact of Prokaryotic Toxins on Aquatic Environments: A Review. *Toxins*, 2(10), 2359-2410.
- Vally, H., Whittle, A., Cameron, S., Dowse, G. K., e Watson, T. (2004). Outbreak of *Aeromonas hydrophila* Wound Infections Associated with Mud Football. *Clinical Infectious Diseases*, 38(8), 1084-1089.
- Vila, J., Marco, F., Soler, L., Chacon, M., e Figueras, M. J. (2002). *In vitro* antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Aeromonas caviae*, *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* biotype *sobria*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 49(4), 701-702.
- Vila, J., Ruiz, J., Gallardo, F., Vargas, M., Soler, L., Figueras, M. J., e Gascon, J. (2003). *Aeromonas* spp. and Traveler's Diarrhea: Clinical Features and Antimicrobial Resistance. *Emerging Infectious Diseases*, 9(5), 552-555.

- Vilches, S., Wilhelms, M., Yu, H. B., Leung, K. Y., Tomás, J. M., e Merino, S. (2008). *Aeromonas hydrophila* AH-3 AexT is an ADP-ribosylating toxin secreted through the type III secretion system. *Microbial Pathogenesis*, 44(1), 1-12.
- Walters, J., Foley, N., e Molyneux, M. (2011). Pus in the thorax: management of empyema and lung abscess. *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain*, 11(6), 229-233.
- Wang, G., Clark, C. G., Liu, C., Pucknell, C., Munro, C. K., Kruk, T. M. A. C., . . . Rodgers, F. G. (2003). Detection and Characterization of the Hemolysin Genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* by Multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(3), 1048-1054.
- Wang, Z., Larocque, S., Vinogradov, E., Brisson, J., Dacanay, A., Greenwell, M., . . . Altman, E. (2004). Structural studies of the capsular polysaccharide and lipopolysaccharide O-antigen of *Aeromonas salmonicida* strain 80204-1 produced under *in vitro* and *in vivo* growth conditions. *European Journal of Biochemistry*, 271(22), 4507-4516.
- Wayne, L. G., Brenner, D. J., Colwell, R. R., Grimont, P. A. D., Kandler, O. , Krichevsky, M. I., . . . Trüper, H. G. . (1987). Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *Int J Syst Bacteriol*, 37, 463-464.
- Wei, X. N., Zheng, Z. J., Zhang, L. H., Qu, F., e Huang, X. (2008). Sensitive and rapid detection of *Aeromonas caviae* in stool samples by loop-mediated isothermal amplification. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 60(1), 113-116.
- Wilcox, M. H., Cook, A. M., Thickett, K. J., Eley, A., e Spencer, R. C. (1992). Phenotypic methods for speciating clinical *Aeromonas* isolates. *Journal of Clinical Pathology*, 45(12), 1079-1083.
- Wilkinson, M., e Woodhead, M. (2004). Pneumonia. *Medicine*, 32(2), 129-134.
- Wilson, J. W., Schurr, M. J., LeBlanc, C. L., Ramamurthy, R., Buchanan, K. L., e Nickerson, C. A. (2002). Mechanisms of bacterial pathogenicity. *Postgraduate Medical Journal*, 78(918), 216-224.
- Wolk, D. M., e Dunne, W. M. (2011). New Technologies in Clinical Microbiology. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(Suppl. 9), S62-S67.
- World Health Organization (2002), Guidelines for drinking-water quality, 2 ed. *Addendum Microbiological agents in drinking water*. Genova, World Health Organization.
- Wu, C., Lee, H., Chang, T., Chen, C., Lee, N., Chang, C., . . . Ko, W. (2009). *Aeromonas* Spontaneous Bacterial Peritonitis: A Highly Fatal Infectious Disease in Patients with Advanced Liver Cirrhosis. *Journal of the Formosan Medical Association*, 108(4), 293-300.
- Wu, C., Tsai, P., Chen, P., Wu, I., Lin, Y., Chen, Y., . . . Ko, W. (2012). *Aeromonas aquariorum* septicemia and enterocolitis in a cirrhotic patient. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 74(4), 406-408.
- Wu, H., Wang, A., e Jennings, M. (2008). Discovery of virulence factors of pathogenic bacteria. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12(1), 93-101.
- Wu, L., Jiang, Y., Tang, Q., Lin, H., Lu, C., e Yao, H. (2012). Development of an *Aeromonas hydrophila* recombinant extracellular protease vaccine. *Microbial Pathogenesis*, 53(5-6), 183-188.
- Yang, Y., Oishi, S., Martin, C. E., e Seeberger, P. H. (2013). Diversity-oriented Synthesis of Inner Core Oligosaccharides of the Lipopolysaccharide of Pathogenic Gram-negative Bacteria. *Journal of the American Chemical Society*, 135(16), 6262-6271.

- Yucel, N., e Erdogan, S. (2010). Virulence properties and characterization of aeromonads isolated from foods of animal origin and environmental sources. *Journal of Food Protection*, 73(5), 855-860.
- Zhang, Q., Shi, G., Tang, G., Zou, Z., Yao, G., e Zeng, G. (2012). A foodborne outbreak of *Aeromonas hydrophila* in a college, Xingyi City, Guizhou, China, 2012. *Western Pacific Surveillance and Response Journal*, 3(4), 39-43.

## Anexo I

Propriedades fenotípicas e bioquímicas de algumas espécies de *Aeromonas*.<sup>18</sup> Adaptado de (Martin-Carnahan & Joseph, 2005).

	Mobilidade	Indol	Ureia	ONPG	Citrato	Acetato	Malonato	KCN	Voges- Proskauer	LDC	Arginina dihidrolase	ODC	ADNase	D-Glucose (gás)	L-Arabinose	L-Ramnose	D-Xilose	Celobiose	Lactose	Maltose	Sacarose	D-trealose	D-Rafinose	Adonitol	Dulcitol	Eritriol	Glicerol	Inositol	D-Manitol	D-Sorbitol	Salicina	D-Arabitol	H <sub>2</sub> S da GCT	Elastase	Hidrolise da esculina	Crescer a 0% NaCl	Crescer a 3% NaCl	Hemolise	Ampicilina (S) <sup>19</sup>	Pirazinamidase <sup>20</sup>	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	-	+	d	+	-	+	+	+	+	-	+	+	d	d	-	-	d	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	d	-	+	d	+	+	+	+	-	-	
<i>Aeromonas allosaccharophila</i>	+	+	-	+	d	+	-	-	-	+	d	d	-	+	d	d	-	+	-	+	+	+	d	-	-	-	+	-	+	-	-	-	d	-	d	+	+	d	-	SD	
<i>Aeromonas bestiarum</i>	+	+	-	+	d	+	-	d	d	d	d	-	d	d	+	d	-	d	d	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	d	-	d	d	+	+	+	+	-	-	
<i>Aeromonas caviae</i>	d	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	d	+	+	+	-	-	-	-	d	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-	d	
<i>Aeromonas encheleia</i>	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	d	-	+	d	-	d	-	-	-	+	d	+	-	-	-	-	+	-	+	-	d	-	d	-	+	+	+	d	SD	SD	
<i>Aeromonas eucrenophila</i>	+	+	-	+	-	d	-	+	-	-	d	-	d	d	d	d	-	d	d	+	d	+	-	-	-	-	d	-	+	-	d	-	d	-	d	+	d	d	-	+	
<i>Aeromonas jandaei</i>	+	+	-	+	+	+	-	d	d	+	+	-	+	+	-	-	-	d	d	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	d	-	-	+	+	+	-	-

<sup>18</sup> Símbolos e abreviaturas: +, >90%; -, <10%; d, de 11 a 89% positivas com incubação a 35°C à exceção de *Aeromonas popoffii* e *Aeromonas sobria* (25°C); SD, sem dados; ONPG, o-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo; KCN, cianeto de potássio; LDC, lisina descarboxilase; ODC, ornitina descarboxilase; H<sub>2</sub>S, sulfureto de hidrogénico; GCT, gelose cisteína tiosulfato; NaCl, cloreto de sódio.

<sup>19</sup> Discos com 10μg, incubados por 24 horas.

<sup>20</sup> Incubação por 48 horas.

Continuação do anexo I.

	Mobilidade	Indol	Ureia	ONPG	Citrato	Acetato	Malonato	KCN	Voges- Proskauer	LDC	Arginina dihidrolase	ODC	ADNase	D-Glucose (gás)	L-Arabinose	L-Ramnose	D-Xilose	Celobiose	Lactose	Maltose	Sacarose	D-trealose	D-Rafinose	Adonitol	Dulcitol	Eritriol	Glicerol	Inositol	D-Manitol	D-Sorbitol	Salicina	D-Arabitol	H <sub>2</sub> S da GCT	Elastase	Hidrolise da esculina	Crescer a 0% NaCl	Crescer a 3% NaCl	Hemolise	Ampicilina (S) <sup>19</sup>	Pirazinamidase <sup>20</sup>
<i>Aeromonas media</i>	d	+	-	+	d	d	-	d	-	-	d	-	d	-	+	-	-	+	d	+	+	+	-	-	-	-	d	-	+	-	d	-	-	-	d	+	+	d	d	d
<i>Aeromonas popoffii</i>	+	d	-	d	+	d	-	d	d	-	+	-	d	+	d	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
<i>Aeromonas schubertii</i>	+	+	-	d	d	d	-	-	d	d	+	-	d	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	d	-	-
<i>Aeromonas sobria</i>	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	d	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	d	-
<i>Aeromonas trota</i>	+	+	-	+	d	+	-	d	-	+	+	-	+	d	-	-	-	+	-	+	d	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	+	+	d	+	d
<i>Aeromonas veronii</i> biovar <i>veronii</i>	+	+	-	+	+	+	-	-	d	+	-	+	d	d	-	-	-	d	d	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	d	-	+	+	+	+	-	-
<i>Aeromonas veronii</i> biovar <i>sobria</i>	+	+	-	+	d	+	-	d	d	+	+	-	d	d	d	-	-	d	d	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	d	-	-	+	+	+	-	d

## Anexo II

Propriedades bioquímicas das espécies de *Aeromonas* presentes em infecções humanas.<sup>21</sup> Adaptado de (Janda & Abbott, 2010; Perales, 2003).

	VP	Gás na D-glucose	Salicina	LDC	ODC	ADH	Cresce a 42°C	Gluconato	Arginina	Arabinose	Esculina	Arbutina	Lactose	Sacarose	D-Sorbitol	Ácido urocânico
<i>Aeromonas hydrophila</i>	+	+	+	+	-	+	(+)	+	+	(+)	+	(+)	(+)	+	-	(+)
<i>Aeromonas bestiarum</i>	(+)	(+)	-	(+)	-	+	SD	SD	SD	+	+	SD	-	+	-	+
<i>Aeromonas salmonicida</i>	(+)	(+)	(+)	(+)	-	(+)	-	SD	SD	+	+	SD	+	+	(+)	+
<i>Aeromonas caviae</i>	-	-	+	-	-	+	(+)	+	+	+	+	-	(+)	+	-	+
<i>Aeromonas media</i>	-	-	+	-	-	+	(+)	+	+	+	+	-	+	+	-	+
<i>Aeromonas eucrenophila</i>	-	(+)	+	-	-	(+)	-	+	+	(+)	(+)	SD	(+)	(+)	-	-
<i>Aeromonas veronii</i> biovar <i>sobria</i>	+	+	-	+	-	+	+	SD	SD	+	-	-	(+)	+	-	-
<i>Aeromonas jandaei</i>	+	+	-	+	-	+	+	(+)	(+)	-	-	-	(+)	-	-	-
<i>Aeromonas schubertii</i>	(+)	-	-	(+)	-	+	+	+	+	-	-	-	(+)	-	-	-
<i>Aeromonas trota</i>	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	(+)	-	(+)	-	(+)
<i>Aeromonas veronii</i> biovar <i>veronii</i>	(+)	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	(+)	(+)	+	-	-
<i>Aeromonas allosaccharophila</i>	SD	+	-	+	(+)	SD	+	+	+	+	(+)	-	SD	SD	SD	SD

<sup>21</sup> Símbolos e abreviaturas: +, mais de 85% das estirpes positivas; -, mais de 85% das estirpes negativas; (+), 16 a 84% das estirpes positivas; SD, sem dados; VP, Voges-Proskauer; LDC, lisina descarboxilase; ADH, arginina descarboxilase; ODC, ornitina descarboxilase.

